



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

**ESTUDO DAS ALTERAÇÕES RENAIS E VASCULARES  
INDUZIDAS PELO VENENO DE *Tityus serrulatus***

**RENATA DE SOUSA ALVES**

**FORTALEZA**

**2005**

**RENATA DE SOUSA ALVES**

**ESTUDO DAS ALTERAÇÕES RENAIS E VASCULARES  
INDUZIDAS PELO VENENO DE *Tityus serrulatus***

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Farmacologia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará para obtenção do título de Mestre em Farmacologia

**Orientadora: Prof<sup>a</sup> Dra. Helena Serra Azul Monteiro**

**Fortaleza  
2005**

A482e Alves, Renata de Sousa.

Estudo das alterações renais e vasculares induzidas pelo veneno de *Tityus serrulatus* / Renata de Sousa Alves. – Fortaleza, 2005.

120 f.: il.

Orientador: Profa. Dra. Helena Serra Azul Monteiro.

Dissertação (Mestrado). Universidade Federal do Ceará. Faculdade de Medicina.

1. Venenos de escorpião - toxicidade 2. Testes de função renal. 3. Mesentério – efeitos de drogas. I. Monteiro, Helena Serra Azul (orientadora) II. Título.

CDD 615.942

# **ESTUDO DAS ALTERAÇÕES RENAIS E VASCULARES INDUZIDAS PELO VENENO DE *Tityus serrulatus***

**RENATA DE SOUSA ALVES**

Aprovada em 11 de Julho de 2005

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Farmacologia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará para obtenção do título de Mestre em Farmacologia

## BANCA EXAMINADORA

---

Prof<sup>a</sup>. Dra. Helena Serra Azul Monteiro  
Orientadora

---

Prof<sup>a</sup>. Dra. Alice Maria Costa Martins  
Co-orientadora

---

Prof<sup>a</sup>. Dra. Gisela Costa Camarão  
Membro da banca examinadora

---

Prof<sup>a</sup>. Dra. Maria Elisabete Amaral de Moraes  
Membro da banca examinadora

Dedico este trabalho aos meus pais, Ambrosio e Francisca, que optaram por ficar sozinhos para nos dar, a mim e minha irmã, oportunidade de estudar e crescer, nos firmarmos como pessoas e profissionais. A eles agradeço as noites em claro, a preocupação com a falta de tempo até mesmo para comer direito, a torcida incontestável e a fé na vitória.

## AGRADECIMENTOS

A *Deus* por sempre nortear minha vida e me mostrar que podemos tudo.

À minha família, *Ambrosio, Francisca e Daniele*, que mesmo diante das ausências, crises de insônia e de ansiedade, sempre me apoiaram e incentivaram.

À minha orientadora, Dra. *Helena Serra Azul Monteiro*, um exemplo de simplicidade e vontade, por me aceitar em seu laboratório e me orientar.

A professora *Maria Goretti R. de Queiroz*, grande incentivadora para que eu fizesse o mestrado, minha orientadora desde a graduação e a quem eu devo muito do que sou hoje.

A Dra. *Alice Maria C. Martins*, uma pessoa extremamente competente e dedicada que muito me auxiliou no decorrer do mestrado.

Ao meu grande amigo *René Duarte*, de ontem, hoje e sempre, que passou comigo a agonia de estudar para a prova da pós-graduação (ele para doutorado), me incentivava enquanto eu tinha meus “chiliques” e alegre todos os meus dias... Essa conquista também é dele.

Ao amigo *Paulo Sérgio*, “eterno” doutorando da Dra. Helena, um homem muito bom e incrivelmente prestativo.

Ao Dr. *Marcus Hikari Toyama*, pela doação do veneno de *Tityus serrulatus*, precioso material para o desenvolvimento desta dissertação.

Ao professor *Dalgimar Menezes* pela prestimosa colaboração na revisão das lâminas e por nossas conversas filosóficas.

Aos amigos de graduação *Carlinhos, Keivy, Fábio, Fabrícia, Mariana e Tâmara* que dividiram comigo as aventuras do início de faculdade.

Ao meu amigo *Roberto Falcão*, que me “soterrou” de informações quando entrei no laboratório de bioquímica, me assustou muito, mas me fez ter muita vontade de saber e fazer sempre o melhor.

Aos amigos do Laboratório de Bioquímica Clínica *Ludmila Bastos, Grazielle Silva, Jamile Magalhães, Daniel Freire, Claudênio Diógenes, Cleidiana Aprígio, Iana Calou e Pablo Stefan* pela amizade, torcida e auxílio na realização dos experimentos.

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

Aos pós-graduandos, mestrandos e doutorandos, do Laboratório de Farmacologia Renal *Ticiane Meireles, Daniela Amora, Janaína Serra Azul, Inês Evangelista e Marcus Davis*, pela torcida e cooperação.

Aos bolsistas do laboratório de Farmacologia Renal *João Paulo, Monique Porto, Pedro Capelo, Diego Germano e Franzé*, pela ajuda na hora precisa, nos experimentos de perfusão renal.

Aos funcionários do IBIMED *José Amadeus, Sílvia Helena, Domingos Barreto, Terezinha, Jorge Luís, Juciê, Bento, Cátia e Fabiana* que me receberam e me ajudaram imensamente a me estabelecer em uma casa estranha, onde hoje me sinto tão à vontade.

Aos amigos do laboratório do professor *Manasses C. Fonteles*, na Universidade Estadual, *Nilberto Robson, Marta Regina, Lucília Lessa, Cláuber Sousa e Rafael*, que me auxiliaram nos experimentos de leito mesentérico. A vocês, agradeço de coração.

Aos amigos de Flores, que nunca esqueci e mesmo de longe transmitem energias positivas para o meu sucesso: *Joelma (bijôca), tia Sousa, Tetê, Nádja e Marquinhos*.

As secretárias do Programa de Pós-graduação em Farmacologia *Sílvia e Aura*, pelas vezes que me atenderam e me auxiliaram com créditos, disciplinas e notas, sempre com muito carinho.

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

A todos que direta ou indiretamente contribuíram para execução e conclusão deste trabalho, com todo meu carinho, obrigada!

“Estou a procura de um livro para ler.  
É um livro todo especial.  
Eu imagino como a um rosto sem traços.  
Não lhe sei o nome nem o autor.  
Quem sabe, as vezes penso que estou a procura de um  
livro que eu mesma escreveria.  
Não sei.  
Mas faço tantas fantasias a respeito deste livro  
desconhecido e já tão profundamente amado.  
Uma das fantasias é assim:  
Eu o estaria lendo e, de súbito, a uma frase nova, com  
lágrimas nos olhos diria em êxtase de dor e de libertação:  
Mas é que eu não sabia que **se pode tudo** meu Deus”.

**Clarice Lispector**

## SUMÁRIO

**RESUMO**

**ABSTRACT**

**LISTA DE FIGURAS**

**LISTA DE QUADROS**

**LISTA DE TABELAS**

**LISTA DE ABREVIATURAS**

<b>1 INTRODUÇÃO.....</b>	<b>19</b>
1.1 Aspectos gerais.....	20
1.2 <i>Tityus serrulatus</i> .....	24
1.3 Veneno escorpiônico.....	27
1.4 Classificação dos acidentes escorpiônicos.....	28
1.5 Método para detecção do veneno circulante.....	29
1.6 Tratamento dos envenenamentos.....	31
1.7 Fisiologia renal e leito mesentérico.....	32
<b>2 JUSTIFICATIVA.....</b>	<b>37</b>
<b>3 OBJETIVOS.....</b>	<b>40</b>
3.1 Geral.....	41
3.2 Específicos.....	41
<b>4 MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>42</b>
4.1 Animais de experimentação.....	43
4.2 Veneno e drogas utilizadas.....	43
4.3 Coleta de dados epidemiológicos.....	43
4.4 Protocolo de tratamento <i>in vivo</i> .....	43
4.5 Perfusão de rim isolado.....	44
4.5.1 Sistema utilizado.....	44
4.5.2 Calibração do sistema.....	45
4.5.3 Solução perfusora.....	47
4.5.4 Técnica cirúrgica.....	47
4.5.5 Protocolo experimental.....	49

4.5.6	Análises bioquímicas.....	49
4.5.7	Cálculos de parâmetros funcionais renais.....	49
4.5.8	Estudo histológico .....	51
4.6	Perfusão de leito vascular isolado.....	51
4.7	Análises estatísticas.....	53
4.8	Comitê de ética .....	53
<b>5</b>	<b>RESULTADOS .....</b>	<b>54</b>
5.1	Levantamento epidemiológico.....	55
5.2	Toxicidade aguda.....	58
5.3	Perfusão de rim isolado .....	63
5.4	Perfusão de leito vascular mesentérico .....	79
5.5	Análise histopatológica.....	82
<b>6</b>	<b>DISCUSSÃO.....</b>	<b>87</b>
<b>7</b>	<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>	<b>96</b>
<b>8</b>	<b>CONCLUSÕES.....</b>	<b>98</b>
<b>9</b>	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>100</b>
	<b>ANEXOS .....</b>	<b>111</b>

## RESUMO

**ESTUDO DAS ALTERAÇÕES RENAI E VASCULARES INDUZIDAS PELO VENENO DE *Tityus serrulatus*.** Mestranda: Renata de Sousa Alves. Orientadora: Dra. Helena Serra Azul Monteiro. Universidade Federal do Ceará. Programa de Pós-Graduação em Farmacologia. 2005.

No Brasil, são notificados, anualmente, cerca de 8.000 acidentes escorpiônicos. A espécie *Tityus serrulatus*, popularmente conhecido como escorpião amarelo, pertence à classe *Arachnidea*, ordem *Scorpionidae*, família *Buthidae*, subfamília *Tityinae*, gênero *Tityus*. É encontrado nos estados de Minas Gerais, Espírito Santo, Bahia, Rio de Janeiro, São Paulo, Paraná, Goiás, Mato Grosso do Sul e Ceará, sendo responsável pelos acidentes com maior gravidade e letalidade. Os efeitos do veneno de *T. serrulatus* (VTs), sobre a fisiologia renal humana, mostraram aumentar os parâmetros renais, uréia e creatinina. Entretanto, na perfusão de rins de ratos, os efeitos não haviam sido testados até agora. O objetivo desse trabalho foi estudar os efeitos renais e a reatividade vascular induzidos pelo veneno do escorpião *Tityus serrulatus*. Foram utilizados ratos Wistar machos pesando entre 250 e 300g, cujos rins foram isolados e perfundidos com Solução de Krebs-Hanseleit contendo 6g% de albumina bovina previamente dialisada. Os efeitos de veneno de *T. serrulatus*, nas concentrações de 1, 3 e 10 µg/mL (n=6), foram estudados sobre a Pressão de Perfusão (PP), Resistência Vascular Renal (RVR), Fluxo Urinário (FU), Ritmo de Filtração Glomerular (RFG), Percentual de Transporte Tubular de Sódio (%TNa<sup>+</sup>), de Potássio (%TK<sup>+</sup>) e de Cloreto (%TCl<sup>-</sup>). O veneno de *T. serrulatus* foi adicionado após 30 minutos de controle interno e aumentou a PP (PP<sub>30'</sub> = 112,4 ± 2,0 vs PP<sub>60'</sub> = 145,8 ± 17,4mmHg\*, \*p<0,05), a RVR (RVR<sub>30'</sub> = 5,88 ± 0,33 vs RVR<sub>60'</sub> = 7,52 ± 0,86mmHg/mL.g<sup>-1</sup>.min<sup>-1</sup>\*, \*p<0,05) e diminuiu o RFG (RFG<sub>30'</sub> = 0,671 ± 0,076 vs RFG<sub>120'</sub> = 0,467 ± 0,062mL.g<sup>-1</sup>.min<sup>-1</sup>\*, \*p<0,05) e o FU (FU<sub>30'</sub> = 0,147 ± 0,011 vs FU<sub>90'</sub> = 0,119 ± 0,013mL.g<sup>-1</sup>.min<sup>-1</sup>\*, \*p<0,05). O leito mesentérico foi perfundido, com solução de Krebs, sob a temperatura de 37°C, a um fluxo constante (4mL/min), enquanto a pressão de perfusão era mensurada através de um transdutor de pressão. Os efeitos vasculares do veneno de *T. serrulatus* (10µg/mL/min; n = 6) foram examinados e comparados com a infusão apenas da solução perfusora. A infusão do veneno de *T. serrulatus* aumentou a pressão basal de perfusão do leito mesentérico isolado (pressão basal: 74,17 ± 3,42 vs VTs 151,8 ± 17,82mmHg\*, \*p<0,05). A avaliação histológica revelou depósitos de proteínas nos túbulos renais e nos espaços urinários dos rins perfundidos com o veneno de *T. serrulatus*. Isso pode revelar que houve um extravasamento do perfusato para o parênquima, devido, provavelmente, ao aumento da pressão hidrostática promovida por VTs. O veneno de *T. serrulatus*, então, promove efeitos hemodinâmicos renais que elevam a resistência e a pressão de perfusão, forçando a passagem de proteínas para os túbulos e diminuindo o ritmo de filtração glomerular e o fluxo urinário.

**Palavras-chave:** *Tityus serrulatus*; Perfusão Renal; Leito Vascular Mesentérico.

## ABSTRACT

**STUDY OF RENAL AND BLOOD VESSEL ALTERATIONS INDUCED BY *Tityus serrulatus* VENOM.**: Renata de Sousa Alves, Master of Sciences. Professor: Dr Helena Serra Azul Monteiro. Federal University of Ceara. Post-Graduation Program in Pharmacology. 2005.

According to the Brazilian Ministry of Health, about 8000 cases of scorpion envenomation are reported yearly in Brazil. Most cases are due to the sting of *Tityus serrulatus*, known popularly as yellow scorpion. It belongs to the *Arachnidea*, class, *Scorpionidae* order, *Buthidae* family, *Tityinae* subfamily and *Tityus* genus. It is present in the Brazilian States of Minas Gerais, Espírito Santo, Bahia, Rio de Janeiro, São Paulo, Paraná, Goiás, Mato Grosso do Sul and Ceara and it is the most dangerous scorpion in Brazil, causing severe envenoming and even death. The effects of *T. serrulatus* venom (TsV) on the renal physiology in humans consist of increased renal parameters such as urea and creatinine. So far, effects had not been tested in the perfused rat kidney. Isolated kidneys from Wistar rats, weighing 250 to 300g, were perfused with Krebs-Henseleit solution containing 6g% of previously dialysed bovine albumin. The effects of *T. serrulatus* venom in the 1, 3 and 10 µg/mL concentrations, were studied on the perfusion pressure (PP), renal vascular resistance (RVR), urinary flow (UF), glomerular filtration rate (GFR), sodium tubular transport (%TNa<sup>+</sup>), potassium tubular transport (%TK<sup>+</sup>) and chloride tubular transport (%TCl<sup>-</sup>). *Tityus serrulatus* venom was added to the system after 30 minutes of internal control; it increased PP (PP<sub>30'</sub> = 112.4 ± 2.0 vs PP<sub>60'</sub> = 145.8 ± 17.4mmHg\*, \*p<0.05) and RVR (RVR<sub>30'</sub> = 5.88 ± 0.33 vs RVR<sub>60'</sub> = 7.52 ± 0.86mmHg/mL.g<sup>-1</sup>.min<sup>-1</sup>\*, \*p<0.05), decreased GFR (GFR<sub>30'</sub> = 0.671 ± 0.076 vs GFR<sub>120'</sub> = 0.467 ± 0.062mL.g<sup>-1</sup>.min<sup>-1</sup>\*, \*p<0.05) and UF (UF<sub>30'</sub> = 0.147 ± 0.011 vs UF<sub>90'</sub> = 0.119 ± 0.013mL.g<sup>-1</sup>.min<sup>-1</sup>\*, \*p<0.05). The mesenteric bed was perfused with Krebs solution kept warm at 37°C by a constant flow (4mL/min), while the variable perfusion pressure was measured by means of a pressure transducer. The vascular effects of *T. serrulatus* venom were examined and compared to the infusion of the perfuse solution. The infusion of *T. serrulatus* venom (10µg/mL/min) increased the basal perfusion pressure of isolated arteriolar mesenteric bed (basal pressure = 74.17 ± 3.42 vs TsV = 151.8 ± 17.82 mmHg\*, \*p<0.05). The histopathological evaluation revealed deposits of protein in the renal tubules and urinary spaces of kidneys perfused with TsV. This may reveal that there has been a perfusate extravasation to the parenchyma probably due to increase of hydrostatic pressure induced by TsV. *T. serrulatus* venom affects renal hemodynamics increasing resistance and perfusion pressure, determining extravasation of perfusate and decreasing the glomerular filtration rate and renal flow.

**Keywords:** *Tityus serrulatus*, Perfused Kidney, Mesenteric Blood Vessels.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Morfologia externa do corpo dos escorpiões.....	22
<b>Figura 2.</b> Escorpião amarelo ( <i>Tityus serrulatus</i> ).....	24
<b>Figura 3.</b> Fêmeas de <i>Tityus serrulatus</i> com filhotes no dorso .....	25
<b>Figura 4.</b> Foto do escorpião <i>Tityus serrulatus</i> refletindo a cor azul quando exposto a luz ultravioleta.....	26
<b>Figura 5.</b> <i>Tityus stigmurus</i> . Espécie semelhante ao <i>Tityus serrulatus</i> presente na região Nordeste.....	26
<b>Figura 6.</b> Desenho esquemático da reação ELISA para detecção de veneno escorpiônico em soro .....	30
<b>Figura 7.</b> Desenho esquemático do sistema de perfusão de rim isolado .....	44
<b>Figura 8.</b> Foto do sistema de perfusão de rim isolado.....	45
<b>Figura 9.</b> Valores de pressão de perfusão (PP) registrados durante a calibração do sistema.....	46
<b>Figura 10.</b> Valores registrados pelo Fluxômetro (L/h) durante a calibração do sistema.....	46
<b>Figura 11.</b> Valores de volume urinário (mL/min) registrados durante a calibração do sistema.....	46
<b>Figura 12.</b> Procedimento cirúrgico para retirada de rim isolado de rato. ....	48
<b>Figura 13.</b> Desenho esquemático do sistema de perfusão de leito vascular mesentérico.....	52
<b>Figura 14.</b> Foto do sistema de perfusão de leito vascular mesentérico.....	52
<b>Figura 15.</b> Mapa da Região Metropolitana de Fortaleza e municípios vizinhos com registro de acidentes escorpiônicos no período 2003-2004 .....	55
<b>Figura 16.</b> Registro do número de casos de acidentes escorpiônicos no Ceará de acordo com os meses, entre 2003 e 2004.....	56
<b>Figura 17.</b> Bairros com maior número de casos (>40 casos) de acidentes escorpiônicos em Fortaleza, registrados no período de 2003-2004.....	57
<b>Figura 18.</b> Valores de glicemia nos tempos 2, 48 e 96 horas após a administração de 300µg/kg de veneno de <i>Tityus serrulatus</i> (VTs) em ratos (i.p; n=7).....	59

<b>Figura 19.</b> Valores de creatinina sérica nos tempos 2, 48 e 96 horas após a administração de 300µg/kg de veneno de <i>Tityus serrulatus</i> (VTs) em ratos (i.p; n=7) .....	60
<b>Figura 20.</b> Valores de uréia sérica nos tempos 2, 48 e 96 horas após a administração de 300µg/kg de veneno de <i>Tityus serrulatus</i> (VTs) em ratos (i.p; n=7) .....	61
<b>Figura 21.</b> Valores de potássio sérico nos tempos 2, 48 e 96 horas após a administração de 300µg/kg de veneno de <i>Tityus serrulatus</i> (VTs) em ratos (i.p; n=7).....	62
<b>Figura 22.</b> Pressão de Perfusão (PP) nos grupos controle (n=6) e tratados (n=6) com veneno de <i>Tityus serrulatus</i> (VTs) nas concentrações de 1, 3 e 10µg/mL .....	66
<b>Figura 23.</b> Resistência Vascular Renal (RVR) nos grupos controle (n=6) e tratados (n=6) com veneno de <i>Tityus serrulatus</i> (VTs) nas concentrações de 1, 3 e 10µg/mL .....	67
<b>Figura 24.</b> Fluxo Urinário (FU) nos grupos controle (n=6) e tratados (n=6) com veneno de <i>Tityus serrulatus</i> (VTs) nas concentrações de 1, 3 e 10µg/mL .....	68
<b>Figura 25.</b> Ritmo de Filtração Glomerular (RFG) nos grupos controle (n=6) e tratados (n=6) com veneno de <i>Tityus serrulatus</i> (VTs) nas concentrações de 1, 3 e 10µg/mL .....	69
<b>Figura 26.</b> Percentual de Transporte Tubular de Sódio (%TNa <sup>+</sup> ) nos grupos controle (n=6) e tratados (n=6) com veneno de <i>Tityus serrulatus</i> (VTs) nas concentrações de 1, 3 e 10µg/mL .....	70
<b>Figura 27.</b> Percentual de Transporte Tubular de Potássio (%TK <sup>+</sup> ) nos grupos controle (n=6) e tratados (n=6) com veneno de <i>Tityus serrulatus</i> (VTs) nas concentrações de 1, 3 e 10µg/mL .....	71
<b>Figura 28.</b> Percentual de Transporte Tubular de Cloreto (%TCl <sup>-</sup> ) nos grupos controle (n=6) e tratados (n=6) com veneno de <i>Tityus serrulatus</i> (VTs) nas concentrações de 1, 3 e 10µg/mL .....	72
<b>Figura 29.</b> Percentual de Transporte Tubular Proximal de Sódio (%pTNa <sup>+</sup> ) nos grupos controle (n=6) e tratados (n=6) com veneno de <i>Tityus serrulatus</i> (VTs) nas concentrações de 1, 3 e 10µg/mL.....	73
<b>Figura 30.</b> Percentual de Transporte Tubular Proximal de Potássio (%pTK <sup>+</sup> ) nos grupos controle (n=6) e tratados (n=6) com veneno de <i>Tityus serrulatus</i> (VTs) nas concentrações de 1, 3 e 10µg/mL.....	74
<b>Figura 31.</b> Percentual de Transporte Tubular Proximal de Cloreto (%pTCl <sup>-</sup> ) nos grupos controle (n=6) e tratados (n=6) com veneno de <i>Tityus serrulatus</i> (VTs) nas concentrações de 1, 3 e 10µg/mL.....	75

<b>Figura 32.</b> Excreção de Sódio ( $\text{ENa}^+$ ) nos grupos controle (n=6) e tratados (n=6) com veneno de <i>Tityus serrulatus</i> (VTs) nas concentrações de 1, 3 e 10 $\mu\text{g/mL}$ .....	76
<b>Figura 33.</b> Excreção de Potássio ( $\text{EK}^+$ ) nos grupos controle (n=6) e tratados (n=6) com veneno de <i>Tityus serrulatus</i> (VTs) nas concentrações de 1, 3 e 10 $\mu\text{g/mL}$ .....	77
<b>Figura 34.</b> Excreção de Cloreto ( $\text{ECl}^-$ ) nos grupos controle (n=6) e tratados (n=6) com veneno de <i>Tityus serrulatus</i> (VTs) nas concentrações de 1, 3 e 10 $\mu\text{g/mL}$ .....	78
<b>Figura 35.</b> Pressão de Perfusão no leito vascular mesentérico em ratos tratados com veneno de <i>Tityus serrulatus</i> (VTs; 10 $\mu\text{g/mL/min}$ ; n=6), Fenilefrina (5 $\mu\text{M/mL/min}$ ; n=6) e Acetilcolina (1 $\mu\text{M}$ ; em bolus; n=6) .....	80
<b>Figura 36.</b> Traçado da pressão de perfusão do leito vascular mesentérico após infusão de veneno de <i>Tityus serrulatus</i> (VTs; 10 $\mu\text{g/mL/min}$ ; n=6), Fenilefrina (5 $\mu\text{M/mL/min}$ ; n=6) e Acetilcolina (1 $\mu\text{M}$ ; em bolus; n=6) .....	81
<b>Figura 37.</b> Corte histopatológico de rim perfundido somente com solução de Krebs-Hanseleit modificada (aumento 100x; n=6) .....	82
<b>Figura 38.</b> Corte histológico de rim perfundido com veneno de <i>Tityus serrulatus</i> (VTs) na concentração de 1 $\mu\text{g/mL}$ . <b>A:</b> Controle (rim esquerdo não perfundido); <b>B:</b> Ação do veneno (rim direito perfundido) (aumento 400x; n=6).....	83
<b>Figura 39.</b> Corte histológico de rim perfundido com veneno de <i>Tityus serrulatus</i> (VTs) na concentração de 3 $\mu\text{g/mL}$ . <b>A:</b> Controle (rim esquerdo não perfundido); <b>B:</b> Ação do veneno (rim direito perfundido) (aumento 400x; n=6).....	84
<b>Figura 40.</b> Corte histológico de rim perfundido com veneno de <i>Tityus serrulatus</i> (VTs) na concentração de 10 $\mu\text{g/mL}$ . <b>A:</b> Controle (rim esquerdo não perfundido); <b>B:</b> Ação do veneno (rim direito perfundido) (aumento 400x; n=6) .....	85
<b>Figura 41.</b> Corte histológico de rim perfundido com veneno de <i>Tityus serrulatus</i> (VTs) na concentração de 10 $\mu\text{g/mL}$ . <b>A:</b> Glomérulos; <b>B:</b> Túbulos renais (aumento 400x; n=6). .....	86

## LISTA DE QUADROS

<b>Quadro 1.</b> Classificação, principais sintomas e soroterapia recomendada para acidentes com escorpiões.....	32
<b>Quadro 2.</b> Cálculos para determinação de parâmetros funcionais renais .....	50

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Distribuição geográfica dos escorpiões do gênero <i>Tityus</i> encontrados no Brasil.....	23
<b>Tabela 2.</b> Vasoconstrictores e Vasodilatadores Renais.....	33
<b>Tabela 3.</b> Valores de glicemia (mg/dL) nos tempos 2, 48 e 96 horas após a administração de 300µg/kg de veneno de <i>Tityus serrulatus</i> (VTs) em ratos (i.p; n=7).....	59
<b>Tabela 4.</b> Valores de creatinina sérica (mg/dL) nos tempos 2, 48 e 96 horas após a administração de 300µg/kg de veneno de <i>Tityus serrulatus</i> (VTs) em ratos (i.p; n=7).....	60
<b>Tabela 5.</b> Valores de uréia sérica (mg/dL) nos tempos 2, 48 e 96 horas após a administração de 300µg/kg de veneno de <i>Tityus serrulatus</i> (VTs) em ratos (i.p; n=7).....	61
<b>Tabela 6.</b> Valores de potássio sérico (mEq/L) nos tempos 2, 48 e 96 horas após a administração de 300µg/kg de veneno de <i>Tityus serrulatus</i> (VTs) em ratos (i.p; n=7).....	62
<b>Tabela 7.</b> Valores de sódio sérico (mEq/L) nos tempos 2, 48 e 96 horas após a administração de 300µg/kg de veneno de <i>Tityus serrulatus</i> (VTs) em ratos (i.p; n=7).....	63
<b>Tabela 8.</b> Pressão de Perfusão (PP) nos grupos controle (n=6) e tratados (n=6) com veneno de <i>Tityus serrulatus</i> (VTs) nas concentrações de 1, 3 e 10µg/mL.....	66
<b>Tabela 9.</b> Resistência Vascular Renal (RVR) nos grupos controle (n=6) e tratados (n=6) com veneno de <i>Tityus serrulatus</i> (VTs) nas concentrações de 1, 3 e 10µg/mL.....	67
<b>Tabela 10.</b> Fluxo Urinário (FU) nos grupos controle (n=6) e tratados (n=6) com veneno de <i>Tityus serrulatus</i> (VTs) nas concentrações de 1, 3 e 10µg/mL.....	68
<b>Tabela 11.</b> Ritmo de Filtração Glomerular (RFG) nos grupos controle (n=6) e tratados (n=6) com veneno de <i>Tityus serrulatus</i> (VTs) nas concentrações de 1, 3 e 10µg/mL.....	69
<b>Tabela 12.</b> Percentual de Transporte Tubular de Sódio (%TNa <sup>+</sup> ) nos grupos controle (n=6) e tratados (n=6) com veneno de <i>Tityus serrulatus</i> (VTs) nas concentrações de 1, 3 e 10µg/mL.....	70
<b>Tabela 13.</b> Percentual de Transporte Tubular de Potássio (%TK <sup>+</sup> ) nos grupos controle (n=6) e tratados (n=6) com veneno de <i>Tityus serrulatus</i> (VTs) nas concentrações de 1, 3 e 10µg/mL.....	71

<b>Tabela 14.</b> Percentual de Transporte Tubular de Cloreto (%TCl <sup>-</sup> ) nos grupos controle (n=6) e tratados (n=6) com veneno de <i>Tityus serrulatus</i> (VTs) nas concentrações de 1, 3 e 10µg/mL .....	72
<b>Tabela 15.</b> Percentual de Transporte Tubular Proximal de Sódio (%pTNa <sup>+</sup> ) nos grupos controle (n=6) e tratados (n=6) com veneno de <i>Tityus serrulatus</i> (VTs) nas concentrações de 1, 3 e 10µg/mL.....	73
<b>Tabela 16.</b> Percentual de Transporte Tubular Proximal de Potássio (%pTK <sup>+</sup> ) nos grupos controle (n=6) e tratados (n=6) com veneno de <i>Tityus serrulatus</i> (VTs) nas concentrações de 1, 3 e 10µg/mL.....	74
<b>Tabela 17.</b> Percentual de Transporte Tubular Proximal de Cloreto (%pTCl <sup>-</sup> ) nos grupos controle (n=6) e tratados (n=6) com veneno de <i>Tityus serrulatus</i> (VTs) nas concentrações de 1, 3 e 10µg/mL.....	75
<b>Tabela 18.</b> Excreção de Sódio (ENa <sup>+</sup> ) nos grupos controle (n=6) e tratados (n=6) com veneno de <i>Tityus serrulatus</i> (VTs) nas concentrações de 1, 3 e 10µg/mL. ....	76
<b>Tabela 19.</b> Excreção de Potássio (EK <sup>+</sup> ) nos grupos controle (n=6) e tratados (n=6) com veneno de <i>Tityus serrulatus</i> (VTs) nas concentrações de 1, 3 e 10µg/mL .....	77
<b>Tabela 20.</b> Excreção de Cloreto (ECl <sup>-</sup> ) nos grupos controle (n=6) e tratados (n=6) com veneno de <i>Tityus serrulatus</i> (VTs) nas concentrações de 1, 3 e 10µg/mL .....	78
<b>Tabela 21.</b> Pressão de Perfusão no leito vascular mesentérico em ratos tratados com veneno de <i>Tityus serrulatus</i> (VTs; n=6), Fenilefrina (n=6) e Acetilcolina (n=6).....	80

## LISTA DE ABREVIATURAS

<b>ANOVA</b>	Análise de Variância
<b>AST</b>	Aspartato Transaminase
<b>Ca<sup>++</sup></b>	Íon cálcio
<b>CEPA</b>	Comitê de Ética em Pesquisa com Animais
<b>CK</b>	Creatina quinase
<b>Cl<sup>-</sup></b>	Íon cloreto
<b>ECI<sup>-</sup></b>	Excreção do íon cloreto
<b>EK<sup>+</sup></b>	Excreção do íon potássio
<b>ENa<sup>+</sup></b>	Excreção do íon sódio
<b>FFOE</b>	Faculdade de Farmácia, Odontologia e Enfermagem
<b>FSR</b>	Fluxo Sanguíneo Renal
<b>FU</b>	Fluxo Urinário
<b>IL1</b>	Interleucina 1
<b>IL6</b>	Interleucina 6
<b>ISCB</b>	Instituto Superior de Ciências Biomédicas
<b>K<sup>+</sup></b>	Íon potássio
<b>LFAVET</b>	Laboratório de Farmacologia em Venenos e Toxinas
<b>LDH</b>	Lactato Desidrogenase
<b>Na<sup>+</sup></b>	Íon sódio
<b>p</b>	Significância estatística
<b>PAF</b>	Fator Ativador de Plaquetas
<b>PP</b>	Pressão de Perfusão
<b>RFG</b>	Ritmo de Filtração Glomerular
<b>RVR</b>	Resistência Vascular renal

<b><i>T. bahiensis</i></b>	<i>Tityus bahiensis</i>
<b><i>T. serrulatus</i></b>	<i>Tityus serrulatus</i>
<b><i>T. stigmurus</i></b>	<i>Tityus stigmurus</i>
<b>UECE</b>	Universidade Estadual do Ceará
<b>UFC</b>	Universidade Federal do Ceará
<b>UNESP</b>	Universidade Estadual Paulista
<b>TNF</b>	Fator de Necrose Tumoral
<b>UPC</b>	Unidade de Pesquisas Clínicas
<b>TsTX</b>	Toxina de <i>Tityus serrulatus</i>
<b>VTs</b>	Veneno de <i>Tityus serrulatus</i>
<b>%TCI<sup>-</sup></b>	Percentual de transporte tubular de cloreto
<b>%TK<sup>+</sup></b>	Percentual de transporte tubular de potássio
<b>%TNa<sup>+</sup></b>	Percentual de transporte tubular de sódio
<b>%pTCI<sup>-</sup></b>	Percentual de transporte tubular proximal de cloreto
<b>%pTK<sup>+</sup></b>	Percentual de transporte tubular proximal de potássio
<b>%pTNa<sup>+</sup></b>	Percentual de transporte tubular proximal de sódio

# INTRODUÇÃO

# 1 INTRODUÇÃO

## 1.1 Aspectos gerais

Como linhagem, os escorpiões provêm de eras remotas. Seus mais antigos fósseis ocorrem em rochas formadas no Período Siluriano, cerca de 420 milhões de anos atrás. A linhagem à qual os escorpiões modernos pertencem surgiu no Período Carbonífero mais recente, há cerca de 350-300 milhões de anos e já foram descritas aproximadamente 1500 espécies que, embora menores, ainda apresentam muitas semelhanças com seus ancestrais (LUCAS e SILVA Jr, 1992; ANDRADE FILHO *et al.*, 2001). São animais de terra firme, habitando as regiões quentes e temperadas, dando preferência a ambientes áridos onde há uma grande diversidade de espécies (SECRETARIA DE SAÚDE DE SÃO PAULO, 1993).

Na astrologia, a constelação de Escorpião é muito antiga. Suas estrelas foram visualizadas como um escorpião pela mais antiga civilização mesopotâmica, 5000 anos atrás. Na mitologia grega a lenda surgiu quando Órion, gigante e poderoso caçador, ofendeu Ártemis, deusa da caça. Esta enviou um escorpião gigante para picar Órion, como punição por seu comportamento. Órion morreu e por causa disso, desde então, vemos no firmamento Órion caindo para o mundo inferior, enquanto Escorpião ascende ao céu (FARAES *et al.*, 2004).

Os escorpiões pertencem ao filo dos *Artropodae*, 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).

A partir da implantação da notificação de acidentes escorpiônicos no Brasil, em 1988, vem se verificando um aumento significativo no número de casos com o passar dos anos. Dados do Ministério da Saúde indicam a ocorrência de cerca de 8.000 acidentes/ano, com um coeficiente de incidência de aproximadamente três casos/100.000 habitantes (FUNDAÇÃO NACIONAL DE SAÚDE, 2001) e uma

letalidade variando em torno de 0,6% (ANDRADE FILHO *et al.*, 2001), sendo os demais casos considerados leves ou moderados.

Os escorpiões são animais carnívoros, alimentando-se principalmente de insetos. Apresentam hábitos noturnos, escondendo-se durante o dia sob pedras, entulhos, telhas e tijolos. Os escorpiões podem sobreviver vários meses sem alimento ou sem água, o que torna seu combate muito difícil (FUNDAÇÃO NACIONAL DE SAÚDE, 2001). A falta de competidores e predadores como macacos ou sapos, também permite a rápida proliferação de escorpiões, uma vez que estes dois fatores contribuem para o controle populacional das espécies (SOARES *et al.*, 2002).

O manuseio inadequado de materiais de construção e entulho aumenta as chances de um acidente. No ambiente domiciliar, os cuidados devem ser redobrados quanto ao uso de roupas e calçados (anexo A). O controle destes animais passa a ser fundamental, e sua eficácia depende de uma ação multidisciplinar envolvendo os órgãos públicos, a comunidade e o manejo ambiental para tornar desfavoráveis as condições de instalação, permanência e proliferação dos escorpiões (INSTITUTO BUTANTAN, s/d).

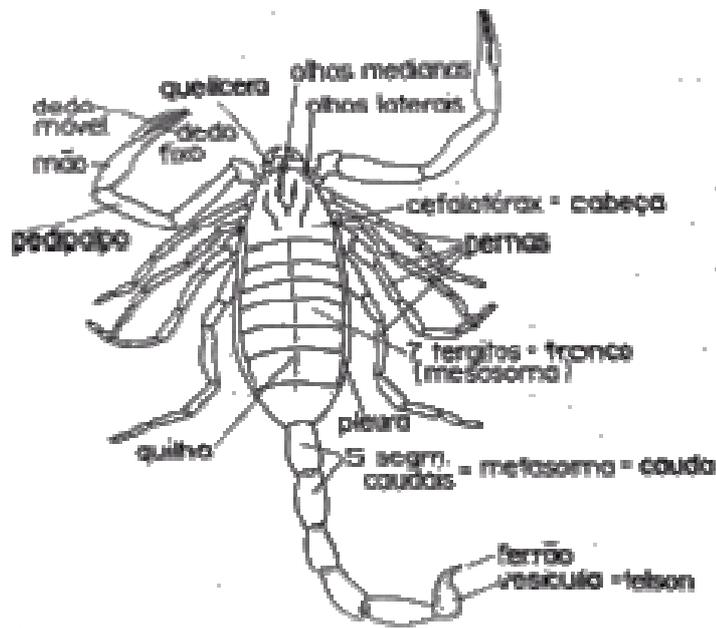
Os escorpiões são vivíparos, entretanto, o *T. serrulatus*, se reproduz por um processo no qual o óvulo se desenvolve sem a necessidade de fecundação, denominado partenogênese e, portanto, existem apenas espécimes do sexo feminino (ANDRADE FILHO *et al.*, 2001). A vida média dos escorpiões é de três a cinco anos e apresentam apenas uma ninhada por ano, com número variável de filhotes dependendo da espécie.

Os escorpiões têm sido divididos em duas categorias ecológicas, em “equilíbrio” e “oportunistas”, dependendo do tipo de ambiente que habitam. As espécies que vivem em equilíbrio com o homem vivem em campos ou estábulos (ambiente natural) enquanto os oportunistas invadem cidades e residências, desequilibrando o ecossistema (LOURENÇO *et al.*, 1996).

No Brasil, o estudo sobre veneno de escorpiões, começou no início do século 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).

O corpo dos escorpiões apresenta-se dividido em cefalotórax, de onde partem 4 pares de patas, 1 par de pedipalpos (que funcionam como pinças) e um par de quelíceras; abdome, formado por 7 segmentos (tergitos) e cauda composta de cinco segmentos, vesícula de veneno (também conhecido como telson) e ferrão (LUCAS e SILVA Jr, 1992). Estas estruturas podem ser evidenciadas na figura 1.



**Figura 1:** Morfologia externa do corpo dos escorpiões (Andrade Filho *et al.*, 2001).

Algumas espécies de escorpiões podem inocular veneno pelo ferrão, sendo considerados animais peçonhentos. A gravidade do envenenamento varia conforme o local da picada e a sensibilidade do acidentado, sendo a gravidade avaliada pelo médico, o qual tomará as decisões sobre o tratamento a ser ministrado. 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, 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), pancreatite, danos cardíacos, desordens gastrintestinais

(TRONCON *et al.*, 2000), alterações renais (ANDRADE FILHO *et al.*, 2001; NUNAN, 2003), 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 brasileiros são animais pouco agressivos, picando apenas para se defender (ANDRADE FILHO *et al.*, 2001). Todos os escorpiões de interesse médico no Brasil estão agrupados no gênero *Tityus*, cujas espécies responsáveis por acidentes estão relacionadas na tabela 1.

**Tabela 1:** Distribuição geográfica dos escorpiões do gênero *Tityus* encontrados no Brasil (GUIA DE VIGILÂNCIA EPIDEMIOLÓGICA, 2004; INSTITUTO BUTANTAN, s/d).

<b>NOME CIENTÍFICO</b>	<b>NOMES POPULARES</b>	<b>DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA</b>
<i>T. bahiensis</i>	escorpião marrom	MG, SP, PR, SC, RS, GO, MS
<i>T. cambridgei</i>	escorpião preto	AP, PA
<i>T. costatus</i>	escorpião	MG, ES, RJ, SP, PR, SC, RS
<i>T. fasciolatus</i>	escorpião	GO, DF
<i>T. metuendus</i>	escorpião	AC, AM, PA, RO
<i>T. serrulatus</i>	escorpião amarelo	BA, CE, MG, ES, RJ, SP, DF, GO, PR
<i>T. silvestris</i>	escorpião	AC, AM, AP, PA
<i>T. stigmurus</i>	escorpião	BA, SE, AL, PE, PB, RN, CE, PI

Entre elas, 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). Estas espécies são consideradas as mais tóxicas do Brasil, sendo o veneno de *T. stigmurus* o que apresenta maior toxicidade ( $DL_{50} = 0,773\text{mg/Kg}$ ), seguido de *T. bahiensis* ( $DL_{50} = 1,062\text{mg/Kg}$ ) e *T. serrulatus* ( $DL_{50} = 1,160\text{mg/Kg}$ ) (LIRA-DA-SILVA *et al.*, 2000).

Mesmo apresentando a  $DL_{50}$  mais elevada, 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 expõem aproximadamente  $5\mu\text{L}$  de veneno; MITRE, 2001) e é, atualmente, o causador do maior número de mortes, principalmente em crianças com menos de

sete anos (BÜCHERL, 1968; ANDRADE FILHO *et al.*, 2001; FUNDAÇÃO NACIONAL DE SAÚDE, 2001; FIGUEROA E BARBOSA, 1983).

### 1.2 *Tityus serrulatus* (Lutz & Mello, 1922)

A espécie de *Tityus serrulatus* foi descrita por Lutz e Mello, em 1922 e pertence à classe *Arachnidea*, ordem *Escorpionidae*, família *Buthidae*, subfamília *Tityinae*, gênero *Tityus*. É encontrado principalmente nos estados da Bahia, Ceará, Distrito federal, Espírito Santo, Goiás, Minas Gerais, Pernambuco, Piauí, Rio de Janeiro, Rio Grande do Norte, São Paulo, Sergipe, Rio grande do Sul (relato de um acidente; TORRES *et al.*, 2002) e Paraná (INSTITUTO BUTANTAN, s/d).

*Tityus serrulatus* (figura 2) é de colorido amarelo claro, o que originou seu nome popular escorpião amarelo, devido a sua cor predominante, embora possua o dorso de coloração escura. A tíbia dos palpos possui coloração amarelada uniforme. No quarto segmento caudal possui duas fileiras de serrilhas que caracterizam e dão o nome à espécie (ANDRADE FILHO *et al.*, 2001; FUNDAÇÃO NACIONAL DE SAÚDE, 2001).

Mede até sete centímetros de comprimento e suas populações são formadas apenas por fêmeas, cuja reprodução se dá por partenogênese (CÂNDIDO, 1999; MATTHIENSEN, 1988; MELLO-LEITÃO, 1939). Cada fêmea de *Tityus serrulatus* pode ter três, quatro ou mais parições e cerca de 70 filhotes durante a vida (SOARES *et al.*, 2002).



**Figura 2:** Escorpião amarelo (*Tityus serrulatus*). No detalhe a serrilha que dá nome a espécie (FUNDAÇÃO NACIONAL DE SAÚDE, 1998).

Enquanto verifica-se o crescimento e até atingir a maturidade sexual, os escorpiões sofrem ecdises, ou seja, trocam periodicamente seu exoesqueleto. Durante este processo, o exoesqueleto antigo parte-se horizontalmente acima das quelíceras e, pela fenda aberta, sai o corpo do escorpião, revestido pelo novo exoesqueleto. O exoesqueleto antigo costuma sair inteiro, conservando a forma do escorpião. Segundo observação de Matthiensen (1988), espécimes de *T. serrulatus* em cativeiro atingiram a maturidade sexual após um ano de idade, tendo passado por 5 ecdises e permanecendo no dorso da mãe (figura 3) até a primeira ecdise (INSTITUTO BUTANTAN, s/d).



**Figura 3:** Fêmeas de *Tityus serrulatus* com filhotes sobre o dorso.

A espécie *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).

O processo de expansão de *T. serrulatus* ocorre continuamente. Quando escorpiões são transportados, via estradas ou ferrovias, e chegam a regiões recém criadas pelo homem, estabelecem novas colônias. 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 (figura 4) e, quando molestado, desfere uma terrível ferroada. 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).



**Figura 4:** Foto do escorpião *Tityus serrulatus* refletindo a cor azul quando exposto a luz ultravioleta (GUIA BUTANTAN, s/d).

Uma espécie variante, o *T. stigmurus*, também conhecido como escorpião amarelo e que se diferencia pela presença de um triângulo negro no cefalotórax e uma faixa negra ao longo dos tergitos (LUCAS e SILVA Jr, 1992), é encontrada predominantemente na região Nordeste (figura 5).



**Figura 5:** *Tityus stigmurus*. Espécie semelhante ao *Tityus serrulatus* presente na região Nordeste (INSTITUTO BUTANTAN, s/d).

Alguns trabalhos consideram *Tityus serrulatus* componente de um complexo com *Tityus stigmurus*, apresentando quatro formas morfológicas confluenziata, unifasciata, confluenziata/maculata, e trifasciata (LOURENÇO, 1981). As formas confluenziata/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.

### 1.3 Veneno escorpiônico

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).

A peçonha escorpiônica é uma mistura complexa composta de grande número de proteínas básicas de baixo peso molecular, associadas a pequenas quantidades de aminoácidos e sais, não apresentando atividade hemolítica, proteolítica e fosfolipásica e não consumindo fibrinogênio (CUPO e HERING, 1992; CUPO *et al.*, 1994; HERING *et al.*, 1997).

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

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). 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).

O veneno tem ação neurotóxica (afeta as transmissões nervosas e causa paralisia) que é produzido por glândulas localizadas no telson (BÜCHERL, 1953). O principal sintoma após uma picada é dor intensa e imediata no local, podendo ocorrer, em casos mais graves, arritmias cardíacas, edema agudo de pulmão e diminuição da temperatura corporal. Outras manifestações comuns no acidente escorpiônico são sudorese profusa, parestesia, tremores, náuseas, vômitos, sialorréia, dor abdominal, taquipnéia e dispnéia, além de elevação dos parâmetros bioquímicos renais como uréia e creatinina (NUNAN, 2003).

O aumento dos níveis séricos de uréia e creatinina são descritos em pacientes acidentados com escorpiões do gênero *Tityus* (ANDRADE FILHO *et al.*, 2001), mostrando alterações nos parâmetros de função renal.

As neurotoxinas presentes no veneno de *Tityus serrulatus* podem alterar especificamente a função de canais de sódio, potássio, cloreto e cálcio. 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).

Estudos bioquímicos experimentais demonstraram que a inoculação do veneno bruto ou de algumas frações purificadas ocasiona dor local e efeitos complexos nos canais de sódio, produzindo despolarização das terminações nervosas pós-ganglionares, com liberação de catecolaminas e acetilcolina. Estes mediadores determinam o aparecimento de manifestações decorrentes da predominância dos efeitos simpáticos e parassimpáticos (FUNDAÇÃO NACIONAL DE SAÚDE, 2001).

A picada de escorpião produz injúria tecidual que pode induzir uma resposta inflamatória sistêmica com subseqüente liberação de citocinas (D'SUZE, 2003).

#### **1.4 Classificação dos acidentes escorpiônicos**

Segundo a Fundação Nacional de Saúde (2001), com base nas manifestações clínicas, os acidentes podem ser inicialmente classificados como:

- Leves - apresentam apenas dor no local da picada e, às vezes, parestesias.
- Moderados - caracterizam-se por dor intensa no local da picada e manifestações sistêmicas do tipo sudorese discreta, náuseas, vômitos ocasionais, taquicardia, taquipnéia e hipertensão leve.
- Graves - além dos sinais e sintomas já mencionados, apresentam uma ou mais manifestações como sudorese profusa, vômitos incoercíveis, salivação excessiva, alternância de agitação com prostração, bradicardia, insuficiência cardíaca, edema pulmonar, choque, convulsões e coma. Os óbitos estão relacionados a complicações como edema pulmonar agudo e choque.

A dor local, uma constante no escorpionismo, pode ser acompanhada de parestesias e ocorre imediatamente após a picada (LIRA-DA-SILVA *et al.*, 2000).

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, 2001), além de manifestações renais com elevação de parâmetros bioquímicos.

O quadro clínico local é semelhante para as espécies de *Tityus*, o que sugere um possível mecanismo comum de ação do veneno relacionado ao alto grau de similaridade entre os peptídeos, componentes tóxicos e expressão de seus genes (LIRA-DA-SILVA *et al.*, 2000).

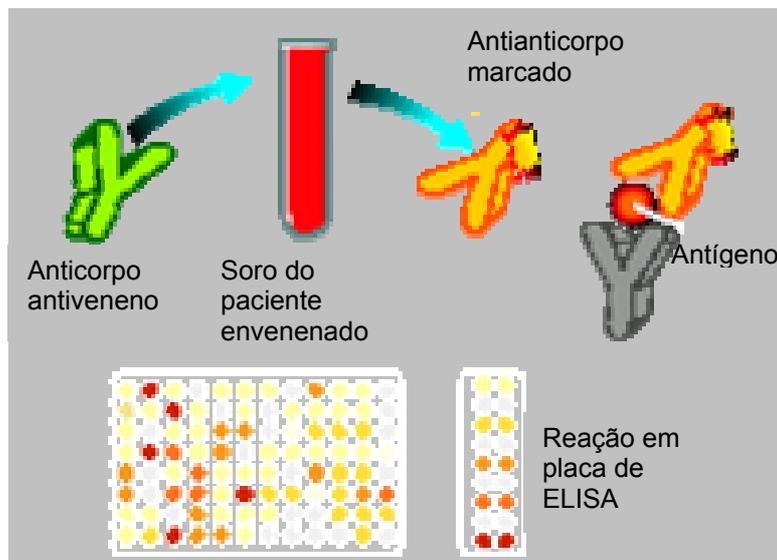
### **1.5 Método para detecção do veneno circulante**

A equipe do bioquímico Chavéz-Olórtegui do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais desenvolveu um método para detecção do

veneno escorpionic circulante. Este método é uma variante do tradicional teste ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay), usado para o diagnóstico de outros tipos de doença, como Aids e Chagas.

Depois de coletada e centrifugada, uma pequena amostra de sangue da vítima é posta em contato com anticorpos específicos contra a toxina, previamente armazenados em placas ELISA.

A seguir adicionam-se anti-anticorpos marcados com uma enzima peroxidase, que conjugam o complexo toxina-anticorpo formado na placa. Como passo seguinte é adicionada a reação um substrato cromógeno que reage com a enzima peroxidase resultando em um produto colorido. Quanto mais intensa a cor obtida, maior a quantidade de toxina circulante no sangue e mais grave o caso (CHAVÉZ-OLÓRTEGUI *et al.*, 1994; FAGUNDES, 2003). O desenho esquemático da reação pode ser visto na figura 6.



**Figura 6:** Desenho esquemático da reação ELISA para detecção de veneno escorpionic em soro (FAGUNDES, 2003).

O processo dura cerca de 50 minutos. Após esse período, o médico tem condições de identificar o animal responsável pelo acidente e a quantidade de veneno inoculada na vítima. Isso permite dosar com segurança a quantidade de soro a ser administrado e, com isso, minimizar os efeitos colaterais.

Com o desenvolvimento desta técnica foi possível, ainda, desacreditar o mito de que a soroterapia anularia a quantidade de veneno circulante, mas não conseguiria reverter o quadro já instalado. Com os testes mostrou-se que, 30 minutos após o início da soroterapia, não só todo o veneno circulante no organismo da vítima desaparecia como os sintomas mais graves também retrocediam (FAGUNDES, 2003).

Para que o método seja incorporado à rotina hospitalar é necessário validá-lo junto ao Ministério da Saúde e negociar a produção de kits diagnósticos para serem utilizados em unidades de pronto-atendimento.

#### **1.6 Tratamento dos envenenamentos (FUNDAÇÃO NACIONAL DE SAÚDE, 2001)**

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. Os distúrbios hidroeletrolíticos também devem ser corrigidos.

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 (quadro 1), com o objetivo de neutralizar a toxina circulante antes de sua impregnação nos tecidos.

O soro antiaracnídico é obtido de plasma de eqüinos hiperimunizados com uma mistura de venenos de escorpiões do gênero *Tityus* (*serrulatus* e *bahiensis*) e

de venenos de aranhas dos gêneros *Phoneutria* (aranha-armadeira) e *Loxosceles* (aranha-marrom).

**Quadro 1:** Classificação, principais sintomas e soroterapia recomendada para acidentes com escorpiões (FUNDAÇÃO NACIONAL DE SAÚDE, 2001).

<b>CLASSIFICAÇÃO</b>	<b>SINTOMAS</b>	<b>SOROTERAPIA (Nº DE AMPOLAS)</b>
Leves	Dor e parestesias locais	-
Moderados	Dor local intensa, sudorese discreta, náuseas, vômitos ocasionais, taquicardia, taquipnéia, taquicardia e hipertensão leve	2 a 3 IV
Graves	Vômitos profusos e incoercíveis, sudorese profusa, sialorréia intensa, alternância de agitação com prostração, bradicardia, insuficiência cardíaca, convulsões, coma edema pulmonar agudo e choque	4 a 6 IV**

\*Tempo de observação de crianças picadas: 6 a 12 horas

\*\* Na maioria dos casos graves 4 ampolas são suficientes para o tratamento

## 1.7 Fisiologia Renal e de Leito Mesentérico

### *Fisiologia Renal*

Os rins são órgãos reguladores do volume e composição dos líquidos corpóreos, através de variações na excreção de água e solutos.

As unidades funcionais dos rins são os néfrons. Cada rim contém aproximadamente um milhão de néfrons, que são divididos em glomérulo e túbulo renal.

O glomérulo é constituído de uma rede capilar glomerular que emerge da arteríola aferente. O túbulo renal é constituído por diferentes segmentos - túbulo contorcido proximal, túbulo reto proximal e alça de Henle. Cada segmento apresenta funções distintas e as células epiteliais possuem diferentes ultra-estruturas responsáveis pela secreção e reabsorção das mais variadas substâncias.

O sangue entra em cada rim através da artéria renal, que se ramifica nas artérias interlobares, nas artérias arqueadas e artérias corticais radiais. As artérias de pequeno calibre, as arteríolas aferentes levam o sangue aos capilares glomerulares, através dos quais ocorre a ultrafiltração. O sangue, então, deixa os capilares glomerulares através das arteríolas eferentes seguindo para os capilares peritubulares (COSTANZO, 2004).

Os rins recebem cerca de 25% do débito cardíaco, sendo diretamente proporcional ao gradiente de pressão entre a artéria e a veia renal e inversamente proporcional à resistência fornecida pelas arteríolas. Portanto, o principal mecanismo para alterações no fluxo sanguíneo é através de modificações na resistência arteriolar aferente ou eferente (COSTANZO, 2004).

Tanto arteríolas aferentes quanto eferentes possuem inervação simpática que provoca vasoconstrição pela ativação de receptores  $\alpha$ -1. Entretanto, existem mais receptores  $\alpha$ -1 nas arteríolas aferentes e um aumento na atividade simpática leva ao aumento do fluxo sanguíneo renal (FSR) e também do ritmo de filtração glomerular (RFG) (STRASSER *et al.*, 1992).

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. Outras substâncias que alteram a resistência das arteríolas aferentes e eferentes são a angiotensina II e as prostaglandinas que exercem efeitos vasoconstrictor e vasodilatador, respectivamente. A Tabela 2 apresenta os principais vasoconstrictores e vasodilatadores renais.

**Tabela 2:** Vasoconstrictores e Vasodilatadores Renais (COSTANZO, 2004).

<b>Vasoconstrictores</b>	<b>Vasodilatadores</b>
Catecolaminas	PGE <sub>2</sub>
Angiotensina II	PGI <sub>2</sub>
Endotelina	Óxido nítrico
	Bradicinina
	Dopamina

PG: Prostaglandinas

O aumento do RFG resulta em maior liberação de soluto e água para a região da mácula densa, uma parte do aparelho justaglomerular, e este responde à liberação aumentada secretando uma substância vasoativa que causa constrição nas arteríolas aferentes e, depois, reduz o FSR e o RFG aos níveis normais, ocorrendo uma auto-regulação (COSTANZO, 2004).

O mecanismo de auto-regulação não é completamente entendido. Não se conhece o componente reconhecido pela mácula densa (os mais prováveis são o  $\text{Na}^+$ , o  $\text{Cl}^-$ , o  $\text{Ca}^{++}$  ou a osmolaridade total) ou a substância vasoativa liberada pelo aparelho justaglomerular e que age localmente provocando vasoconstrição das arteríolas aferentes (suspeita-se da participação de adenosina, prostaglandinas ou cininas).

O RFG é determinado pelo *clearance* de um marcador glomerular que deve ser livremente filtrado através dos capilares glomerulares; não ser reabsorvido ou secretado pelo túbulo renal e, quando em infusão, não altere o ritmo de filtração glomerular.

O marcador glomerular ideal é a inulina, um polímero de frutose com peso molecular de aproximadamente 5.000 daltons que não se liga às proteínas plasmáticas e é livremente filtrada através da parede do capilar glomerular passando completamente inerte pelo túbulo renal. Assim, a quantidade de inulina filtrada é exatamente igual à quantidade excretada na urina. Outro marcador para o RFG, a creatinina endógena não é um marcador perfeito, pois é secretada em pequenas quantidades e isso superestima ligeiramente o RFG.

A filtração glomerular resulta na produção de grandes quantidades de ultrafiltrado do plasma, cerca de 180L/dia. Se fosse excretado sem modificações haveria perdas excessivas na urina de água, eletrólitos e glicose. O mecanismo de reabsorção nas células epiteliais do túbulo renal, então, re-introduz estas substâncias à circulação (COSTANZO, 2004).

O controle hormonal auxilia a regulação dos volumes de líquidos corporais e concentração de soluto exercidos pelos rins. Os principais hormônios envolvidos neste controle são aldosterona (que atua em nível distal aumentando a reabsorção de sódio e água); a angiotensina II (atua da mesma forma que a aldosterona, mas

em nível proximal); o hormônio antidiurético (promove a reabsorção de água no túbulo coletor) e o peptídeo natriurético atrial (secretado pelos átrios em resposta a um aumento da pressão arterial, promovendo relaxamento do músculo liso vascular e diminuindo a reabsorção de sódio e água). Além destes, o hormônio paratireoideo atua em diferentes regiões do néfron regulando as concentrações de fosfato e cálcio (GUYTON e HALL, 1997 e COSTANZO, 2004).

### *Fisiologia de Leito Mesentérico*

Cada órgão apresenta uma microcirculação organizada de forma a atender suas necessidades. Em geral, cada artéria nutridora, ao entrar no órgão, se ramifica em arteríolas com diâmetro interno com menos de 20 $\mu$ m. As arteríolas, então, se ramificam até atingir 5 a 9 $\mu$ m, suprindo sangue para os capilares.

O leito vascular mesentérico irriga a região esplâncnica levando o sangue através da arteríola para uma série de metarteríolas (arteríolas terminais) que levam o sangue aos capilares preferenciais (calibrosos) e verdadeiros (delgados) de onde o sangue retorna à circulação geral através das vênulas. As metarteríolas não apresentam capa muscular contínua, mas apenas fibras musculares lisas que circundam o vaso em pontos intermitantes (GUYTON e HALL, 1997).

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

Variações no fluxo de sangue a um dado órgão são alcançadas pela alteração da resistência arteriolar. Os mecanismos que regulam o fluxo de sangue aos vários órgãos são classificados como controle local (intrínseco) e controle neural ou hormonal (extrínseco). O controle local é exercido pela ação direta de metabólitos locais sobre a resistência arteriolar, enquanto o controle neural inclui mecanismos

como a ação do sistema nervoso simpático sobre o músculo liso vascular e ações de substâncias vasoativas, como histamina, bradicinina e prostaglandinas (COSTANZO, 2004).

# **JUSTIFICATIVA**

## 2 JUSTIFICATIVA

A peçonha de quase todos os escorpiões tem levado pesquisadores do mundo inteiro a estudar as ações do veneno e suas frações, na perspectiva da utilização como ferramenta farmacológica e investigação de algum princípio ativo na terapêutica.

São notificados anualmente cerca de oito mil acidentes com escorpiões no Brasil, sendo 50% destas notificações procedentes dos estados de São Paulo e Minas Gerais (PARDAL *et al.*, 2003). Entretanto, tem sido registrado um aumento significativo de casos provenientes dos estados da Bahia, Rio Grande do Norte, Alagoas e Ceará (FUNDAÇÃO NACIONAL DE SAÚDE, 2001).

O *Tityus serrulatus*, de maior freqüência na América do Sul é o responsável pelos acidentes com maior gravidade, com a letalidade variando em torno de 0,6%, principalmente em crianças menores de 14 anos (ANDRADE FILHO *et al.*, 2001).

Do ponto de vista de saúde pública, tem sido preocupante o aumento da dispersão de *T. serrulatus* já sendo descritos casos no Recôncavo Baiano, Ceará, Distrito Federal e norte do Paraná. Esta dispersão tem sido explicada em parte pelo fato da espécie se reproduzir por partenogênese (FUNDAÇÃO NACIONAL DE SAÚDE, 2001; INSTITUTO BUTANTAN, s/d).

Os estudos sobre as propriedades químicas dos venenos escorpiônicos têm sido realizados com maior freqüência com as peçonhas de *T. serrulatus* e *T. bahiensis*. O estudo de Lira-da-Silva (2000) aponta para semelhanças na gravidade do envenenamento por *T. serrulatus* e *T. stigmurus*, exceto no número de óbitos e complicações ocasionados por esta última espécie (registro de um único caso de óbito em uma criança picada por *T. stigmurus*, em 1983, na cidade de Recife, PE).

Os efeitos do veneno de *T. serrulatus* sobre a fisiologia renal humana aumentaram os parâmetros renais, uréia e creatinina (ANDRADE FILHO *et al.*, 2001), além da presença de congestão peritubular e diminuição do volume urinário (NUNAN, 2003).

Os casos de escorpionismo no Ceará têm uma alta incidência, principalmente em crianças abaixo de 14 anos, demonstrando a necessidade de um levantamento epidemiológico na região.

Embora a espécie predominante no Ceará seja *Tityus stigmurus*, optamos, inicialmente, em trabalhar com o veneno de *Tityus serrulatus*, também presente em nosso Estado (INSTITUTO BUTANTAN, s/d), sendo a espécie relacionada aos casos de maior gravidade e óbito, principalmente em crianças.

## **OBJETIVOS**

### 3 OBJETIVOS

#### 3.1 Objetivo geral

Estudar os efeitos biológicos causados pelo veneno do escorpião *Tityus serrulatus*.

#### 3.2 Objetivos específicos

- Realizar um levantamento epidemiológico dos acidentes ocasionados por escorpiões no Estado do Ceará;
- Estudar a toxicidade aguda induzida pelo veneno de *Tityus serrulatus*;
- Estudar os efeitos renais induzidos pelo veneno de *Tityus serrulatus*;
- Avaliar as alterações histológicas renais causadas pelo veneno de *Tityus serrulatus*;
- Estudar os efeitos vasculares promovidos pelo veneno de *Tityus serrulatus*;

# **MATERIAL E MÉTODOS**

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 ANIMAIS DE EXPERIMENTAÇÃO

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*”.

### 4.2 VENENO E DROGAS UTILIZADAS

O veneno de *Tityus serrulatus* liofilizado foi gentilmente cedido pelo Dr. Marcus H. Toyama, Universidade Estadual Paulista (UNESP). As drogas e sais foram obtidos da Sigma (USA) com alto grau de pureza.

### 4.3 LEVANTAMENTO EPIDEMIOLÓGICO

O levantamento epidemiológico foi realizado a partir das informações contidas nas fichas de notificação de acidentes por animais peçonhentos (anexo B) de pacientes atendidos no Centro de Atendimento Toxicológico (CEATOX) do Hospital Dr. José Frota em Fortaleza, durante os anos de 2003 e 2004.

Os dados obtidos das fichas foram: data do atendimento, sexo e idade do paciente, município de ocorrência, bairro da cidade de Fortaleza, classificação do acidente (leve, moderado ou grave) e evolução clínica do paciente (cura ou óbito).

### 4.4 PROTOCOLO DE TRATAMENTO *in vivo* – TOXICIDADE AGUDA

Ratos wistar machos foram divididos em dois grupos de sete animais cada. O grupo I (G-I) foi utilizado como controle e recebeu o veículo de dissolução do veneno (salina 0,1mL/100g i.p). O grupo II (G-II) foi tratado com veneno de *T. serrulatus* na dose de 300 µg/Kg, no volume de 0,1mL/100g; i.p.

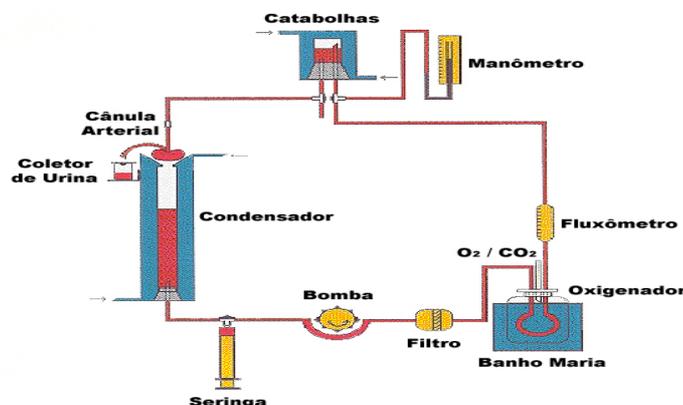
Os animais foram submetidos a uma coleta sanguínea inicial (coleta 0h) para determinação dos níveis bioquímicos basais. Após um período de recuperação de 24 horas, os animais receberam a administração de salina (G-I) e veneno de *Tityus serrulatus* (G-II). A seguir, foram realizadas novas coletas 2, 48 e 96 horas após a administração intraperitoneal em ambos os grupos. Os animais foram previamente anestesiados com éter e as coletas ocorreram através do plexo orbital ocular, utilizando heparina (1:50) como anticoagulante.

O sangue foi utilizado para determinação de alterações bioquímicas (glicemia, uréia, creatinina, sódio e potássio) induzidas pelo veneno de *T. serrulatus* nos ratos.

## 4.5 PERFUSÃO DE RIM ISOLADO

### 4.5.1 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 constante as substâncias dialisáveis com oxigenação adaptada ao próprio sistema (Figuras 10 e 11).



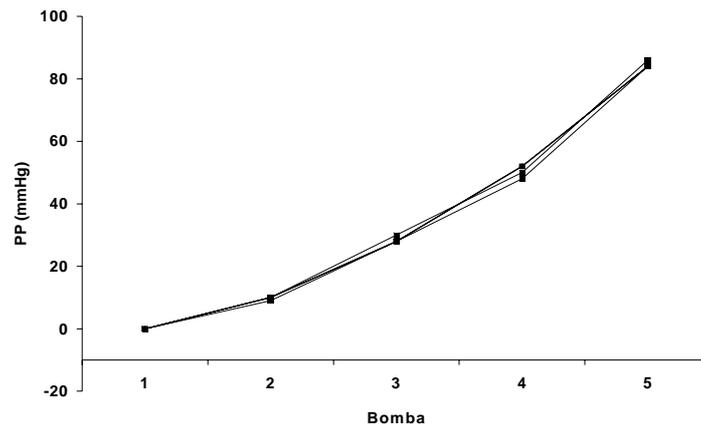
**Figura 7:** Desenho esquemático do sistema de perfusão de rim isolado (LFAVET)



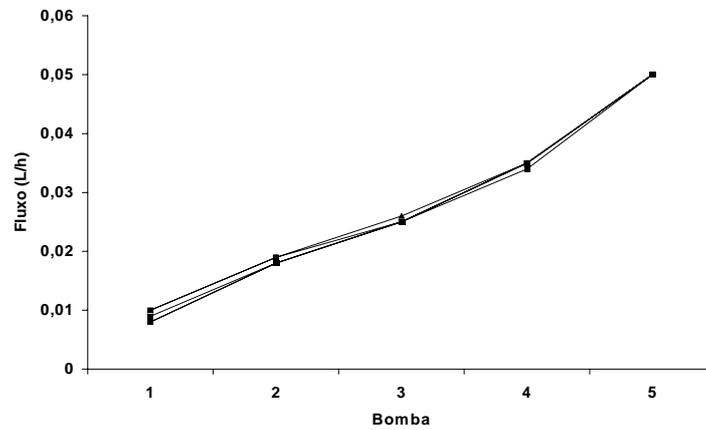
**Figura 8:** Foto do sistema de perfusão de rim isolado (LAFAVET-UFC)

#### 4.5.2 Calibração do sistema

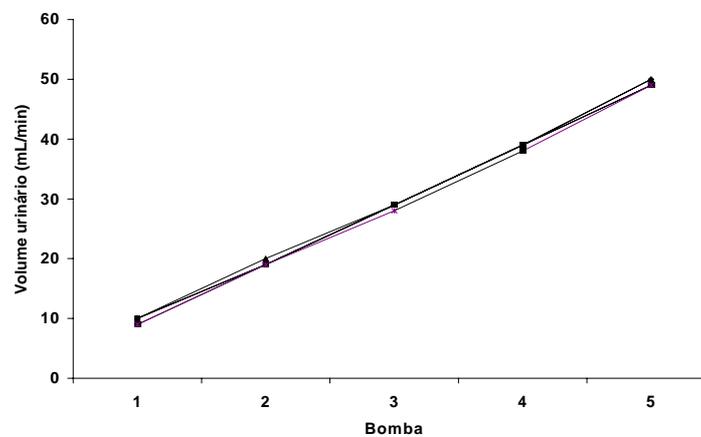
O sistema foi calibrado sempre antes do início dos experimentos. Foi avaliado em cada uma das bombas a pressão de perfusão (PP) em mmHg, o fluxo urinário (L/h) e o volume de urina coletado em um minuto (mL/min). Os resultados estão demonstrados nas figuras 12, 13 e 14, a seguir.



**Figura 9:** Valores de pressão de perfusão (PP) registrados durante a calibração do sistema (n = 6)



**Figura 10:** Valores registrados pelo Fluxômetro (L/h) durante a calibração do sistema (n=6)



**Figura 11:** Valores de volume urinário (mL/min) registrados durante a calibração do sistema (n = 6)

### 4.5.3 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).

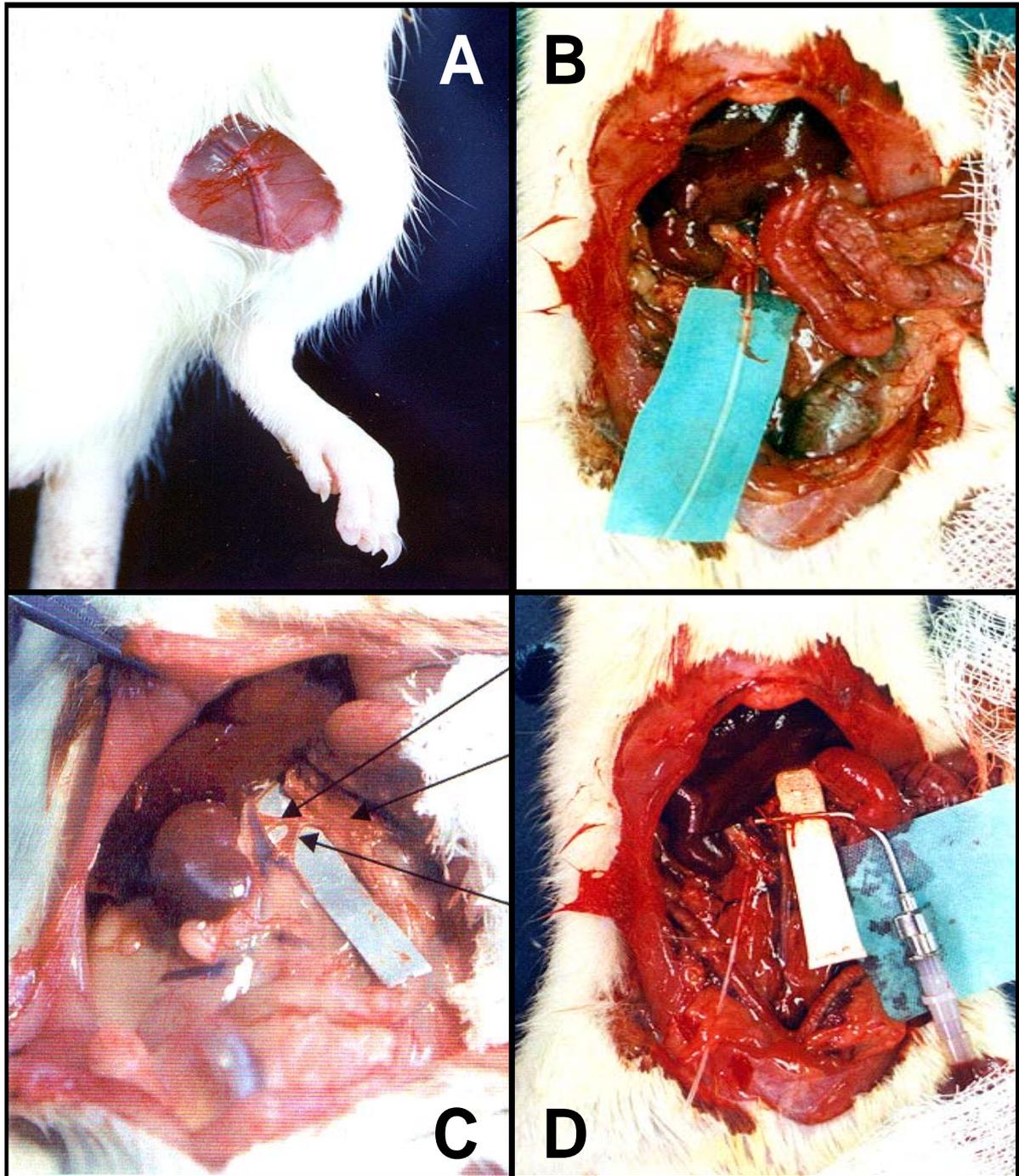
### 4.5.4 Técnica cirúrgica

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

Após assepsia da parede abdominal, procedeu-se uma incisão mediana e duas incisões perpendiculares à linha alba, para uma melhor observação das estruturas anatômicas. Rebateram-se as vísceras abdominais para o lado esquerdo, a fim de facilitar a visualização do rim direito e estruturas circunvizinhas (figura 15).

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 12:** 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 (LFAVET-UFC).

#### 4.5.5 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. Após este período foi adicionado o veneno de *Tityus serrulatus* (VTs) nas concentrações de 1, 3 e 10 µg/mL (n=6 por dose). 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. As 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.

#### 4.5.6 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). Os testes bioquímicos para determinação de glicemia, uréia e creatinina, foram realizados por técnica enzimático-colorimétrica, seguindo as recomendações do fabricante (Labtest). As determinações hematológicas (eritrócitos, leucócitos, hematócrito e hemoglobina), foram realizadas em aparelho de semi-automação CELL DYN 500. Todos os testes bioquímicos foram realizados no Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas da Universidade Federal do Ceará e na Unidade de Pesquisas Clínicas.

#### 4.5.7 Cálculos de parâmetros funcionais renais

O quadro 2 apresenta as fórmulas utilizadas para determinação de parâmetros funcionais renais (MARTINEZ-MALDONADO *et al.*, 1978; FONTELES, 1980).

**Quadro 2:** Cálculos para determinação de parâmetros funcionais renais.**1. FU (mL.g<sup>-1</sup>.min<sup>-1</sup>) = 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<sup>-1</sup>.min<sup>-1</sup>) = 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<sup>-1</sup>.min<sup>-1</sup>) = Fluxo de perfusão renal** (registrado a cada 10 min/peso do rim/intervalo de tempo)**5. RVR (mmHg/mL.g<sup>-1</sup>.min<sup>-1</sup>) = Resistência vascular renal**

RVR = PP (mmHg) / FPR

**6. FNa<sup>+</sup> (μEq.g<sup>-1</sup>.min<sup>-1</sup>) = Sódio filtrado**

FNa<sup>+</sup> = RFG x PNa<sup>+</sup> (PNa<sup>+</sup> = Concentração de sódio no perfusato)

**7. ENa<sup>+</sup> (μEq.g<sup>-1</sup>.min<sup>-1</sup>) = Sódio excretado**

ENa<sup>+</sup> = FU x UNa<sup>+</sup> (UNa<sup>+</sup> = Concentração de sódio na urina)

**8. TNa<sup>+</sup> (μEq.g<sup>-1</sup>.min<sup>-1</sup>) = Sódio transportado**

TNa<sup>+</sup> = FNa<sup>+</sup> - ENa<sup>+</sup>

**9. %TNa<sup>+</sup> = Percentual de sódio transportado**

%TNa<sup>+</sup> = TNa<sup>+</sup> x 100 / FNa<sup>+</sup>

**10. Cosm (mL.g<sup>-1</sup>.min<sup>-1</sup>) = Clearance osmótico**

[Uosm / Posm] x FU (onde Uosm = Osmolaridade urinária e Posm = Osmolaridade do perfusato)

**11. FK<sup>+</sup> (μEq.g<sup>-1</sup>.min<sup>-1</sup>) = Potássio filtrado**

FK<sup>+</sup> = RFG x PK<sup>+</sup> (PK<sup>+</sup> = concentração de potássio no perfusato)

**12. EK<sup>+</sup> (μEq.g<sup>-1</sup>.min<sup>-1</sup>) = Potássio excretado**

EK<sup>+</sup> = FU x UK<sup>+</sup> (UK<sup>+</sup> = Concentração de potássio na urina)

**13. TK<sup>+</sup> (μEq.g<sup>-1</sup>.min<sup>-1</sup>) = Potássio transportado**

TK<sup>+</sup> = FK<sup>+</sup> - EK<sup>+</sup>

**14. %TK<sup>+</sup> = Percentual de potássio transportado**

%TK<sup>+</sup> = TK<sup>+</sup> x 100 / FK<sup>+</sup>

**15. TCl<sup>-</sup> (μEq.g<sup>-1</sup>.min<sup>-1</sup>) = Cloreto transportado**

TCl<sup>-</sup> = FCl<sup>-</sup> - ECl<sup>-</sup>

**16. % TCl<sup>-</sup> = Percentual de cloreto transportado**

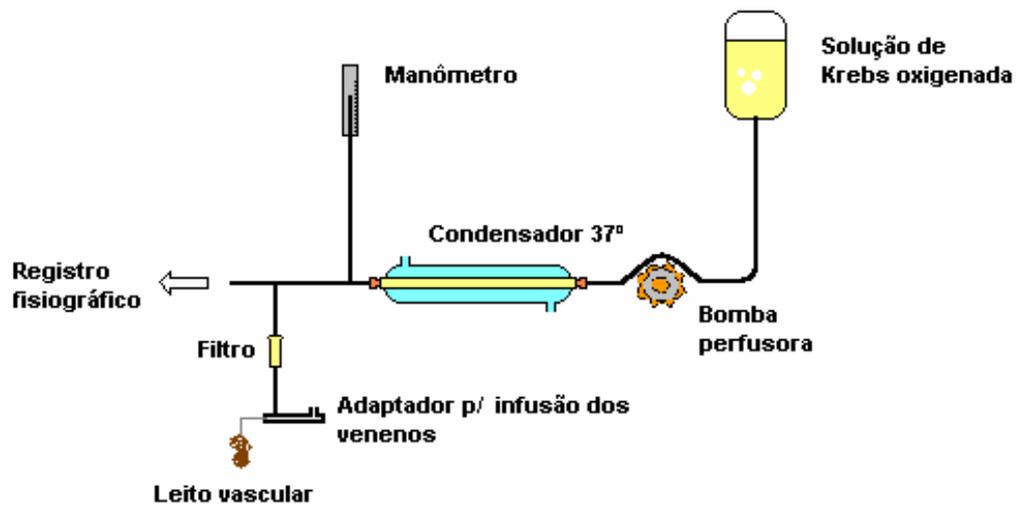
% TCl<sup>-</sup> = TCl<sup>-</sup> x 100 / F TCl<sup>-</sup>

#### 4.5.8 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 5 $\mu$ m. 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).

#### 4.6 PERFUSÃO DE LEITO VASCULAR ISOLADO

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 abdome, 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 16 e 17) com solução de krebs contendo: 114,0mM de NaCl; 4,96mM de KCl; 1,24mM de KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>; 0,5mM de MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O; 24,99mM de NaHCO<sub>3</sub>; 2,10mM de CaCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>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 do veneno de *Tityus serrulatus* (10 $\mu$ g/mL/min.; n = 6), infundido a uma taxa constante de 0,1mL/min, comparado com a infusão do veículo sozinho.



**Figura 13:** Desenho esquemático do sistema de perfusão de leito vascular mesentérico (LFAVET-UFC).



**Figura 14:** Foto do sistema de perfusão de leito vascular mesentérico (ISCB-UECE).

#### **4.7 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%.

#### **4.8 COMITÊ DE ÉTICA**

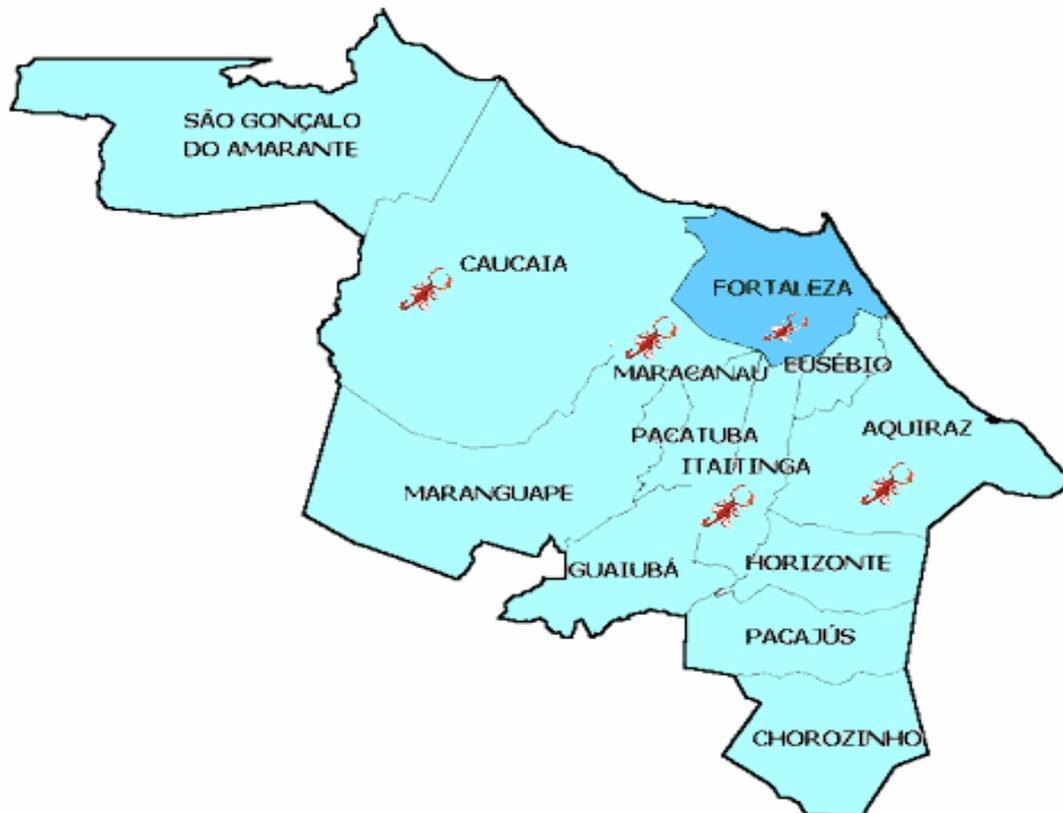
O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Animais (CEPA) do Departamento de Fisiologia e Farmacologia da Universidade Federal do Ceará.

# **RESULTADOS**

## 5 RESULTADOS

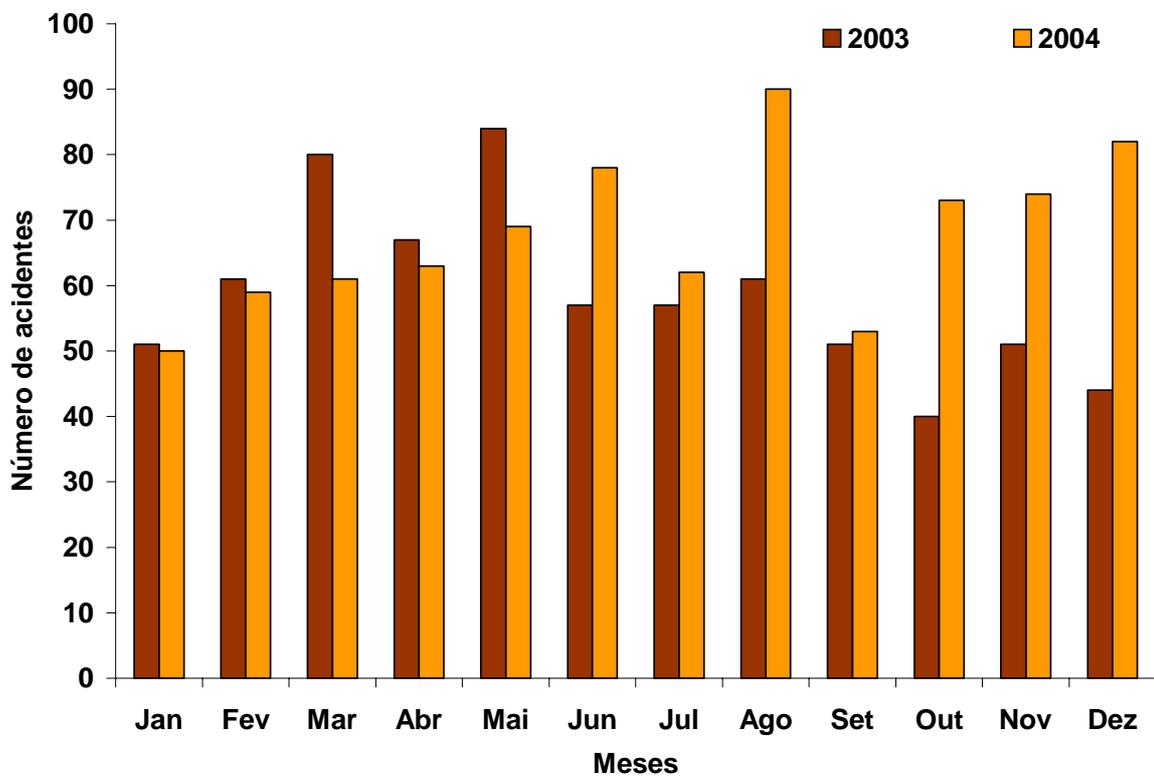
### 5.1 Levantamento Epidemiológico

Os acidentes escorpionicos 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. Todos estes acidentes ocorreram nos limites do estado do Ceará, principalmente Fortaleza e região metropolitana (figura 15).

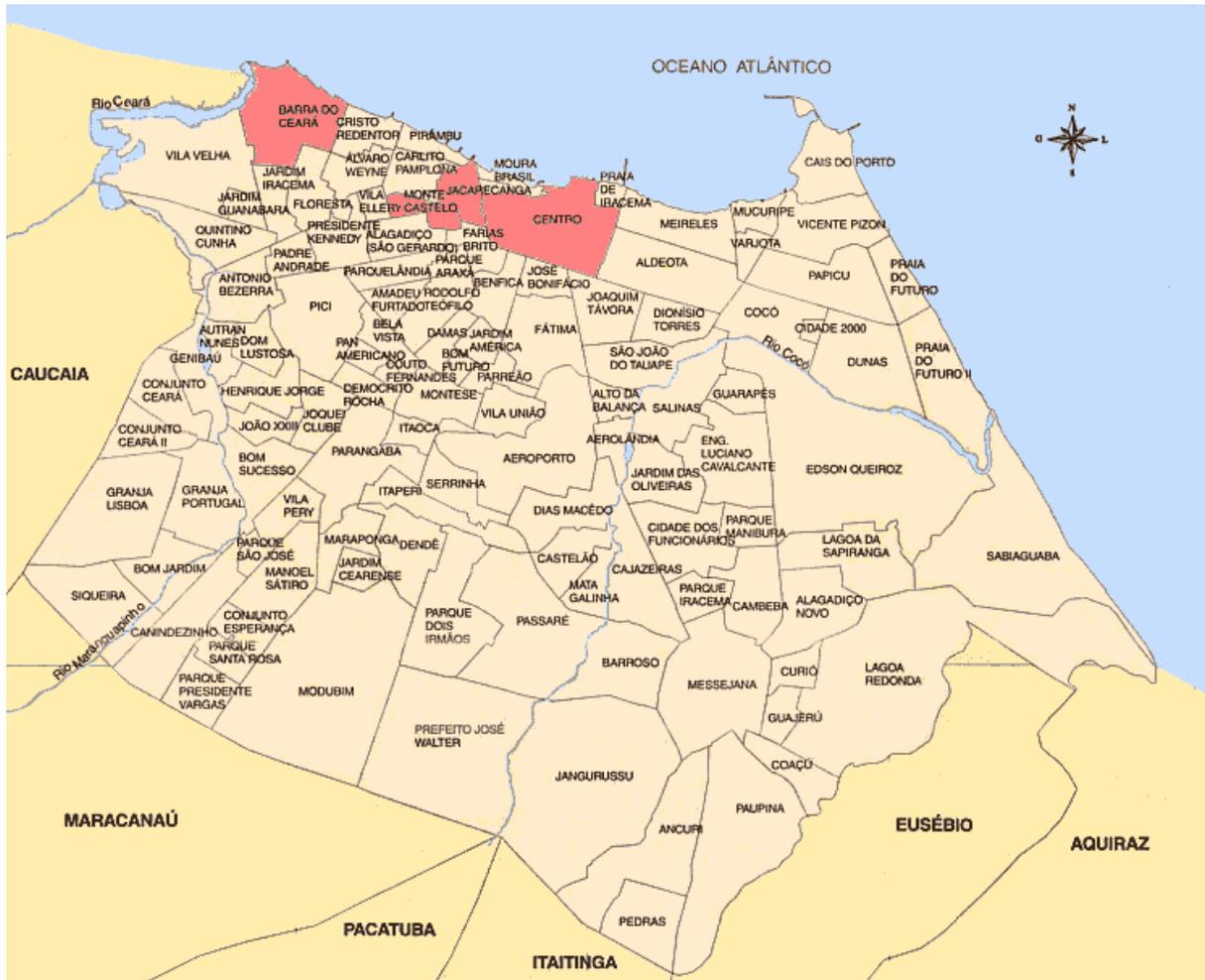


**Figura 15:** Mapa da Região Metropolitana de Fortaleza e municípios vizinhos com registro de acidentes escorpionicos no período 2003-2004 (<[www.ceara.com.br](http://www.ceara.com.br)>).

Os resultados demonstram que os acidentes por escorpiões são freqüentes o ano inteiro (figura 16), ocorrendo predominância no sexo feminino (60,14%) e faixa etária entre 15 a 29 anos (28%), enquanto crianças abaixo de 14 anos foram vítimas em 21% dos casos. Os acidentes geralmente ocorrem quando se manuseia material de construção ou entulho, em residências, e foram registrados acidentes em praticamente todos os bairros de Fortaleza. Os bairros com o maior número de casos (>40 casos no biênio) encontram-se destacados na figura 17.



**Figura 16:** Registro do número de casos de acidentes escorpiônicos no Ceará de acordo com os meses entre 2003-2004.



**Figura 17:** Bairros com número de casos (>40 casos) de acidentes escorpionicos em Fortaleza, registrados no período de 2003-2004, marcados em vermelho: Centro (97 casos), Barra do Ceará (53 casos), Monte Castelo (44 casos) e Jacarecanga (43 casos) (<[www.ceara.com.br](http://www.ceara.com.br)>).

Os casos foram considerados leves em 68,77% dos acidentes, 0,59% moderados, 4,68% foram considerados não intoxicados e 25,96% ignorados. Nenhum dos casos foi considerado grave e não houve registro de óbito durante o período estudado.

## 5.2 Toxicidade aguda

Com este estudo foi observado um aumento da glicemia 48 e 96 horas após a administração do veneno de *T. serrulatus* quando comparado aos controles nos mesmos períodos, como demonstrado na tabela 3/figura 18.

Também foi observado uma elevação da creatinina sérica 2, 48 e 96 horas após a administração do VTs (tabela 4/figura 19).

Os níveis de uréia elevaram-se significativamente em 96 horas quando comparado ao controle, tabela 5/figura 20.

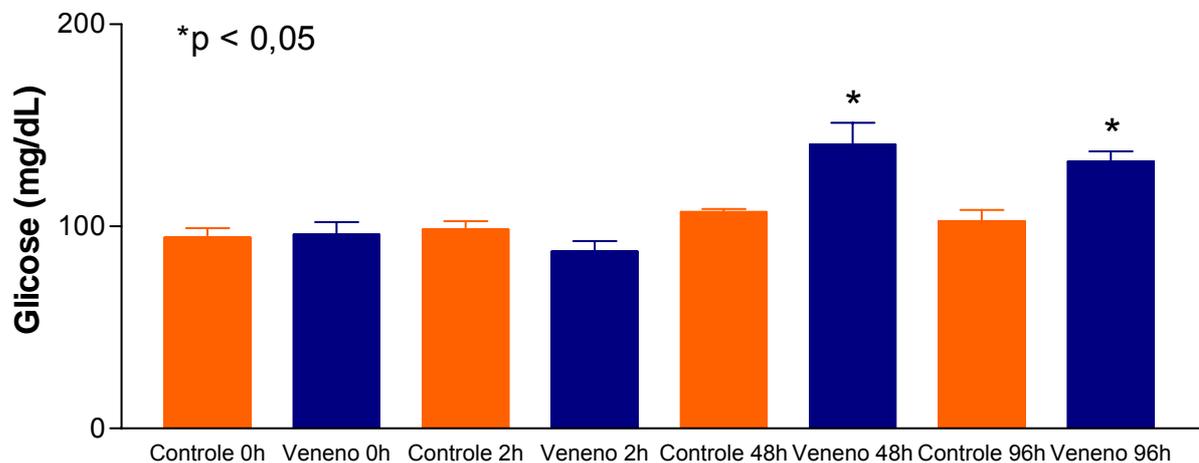
Os resultados obtidos demonstraram uma hipocalcemia 2 e 48 horas após a administração do veneno que foi revertida a uma hipercalemia em 96 horas (tabela 6/figura 21).

O sódio, entretanto, não mostrou alterações significativas nos diferentes tempos de coleta em relação aos controles, conforme tabela 7.

**Tabela 3:** Valores de glicemia (mg/dL) nos tempos 2, 48 e 96 horas após a administração de 300 $\mu$ g/kg de veneno de *Tityus serrulatus* (VTs) em ratos (i.p.; n=7).

	Coleta 0h	Coleta 2hs	Coleta 48hs	Coleta 96hs
Controle	94,33 $\pm$ 4,81	98,33 $\pm$ 4,19	107,0 $\pm$ 2,31	102,7 $\pm$ 5,41
VTs	95,96 $\pm$ 6,11	87,55 $\pm$ 5,26	140,4 $\pm$ 10,85 *	132,1 $\pm$ 4,98 *

\* p<0,05 comparado ao controle no mesmo período

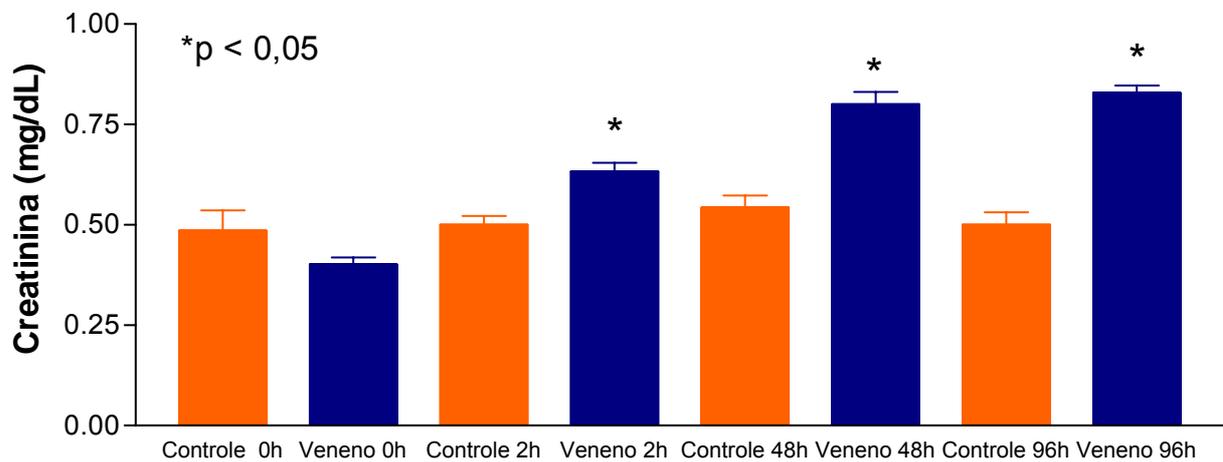


**Figura 18:** Valores de glicemia (mg/dL) nos tempos 2, 48 e 96 horas após a administração de 300 $\mu$ g/kg de veneno de *Tityus serrulatus* (VTs) em ratos (i.p.; n = 7), comparados ao controle (n = 7) com \*p<0,05.

**Tabela 4:** Valores de creatinina sérica (mg/dL) nos tempos 2, 48 e 96 horas após a administração de 300µg/kg de veneno de *Tityus serrulatus* (VTs) em ratos (i.p.; n=7).

	Coleta 0h	Coleta 2hs	Coleta 48hs	Coleta 96hs
Controle	0,49 ± 0,05	0,50 ± 0,02	0,54 ± 0,03	0,50 ± 0,03
VTs	0,40 ± 0,02	0,63 ± 0,02 *	0,80 ± 0,03 *	0,83 ± 0,02 *

\* p<0,05 comparado ao controle no mesmo período

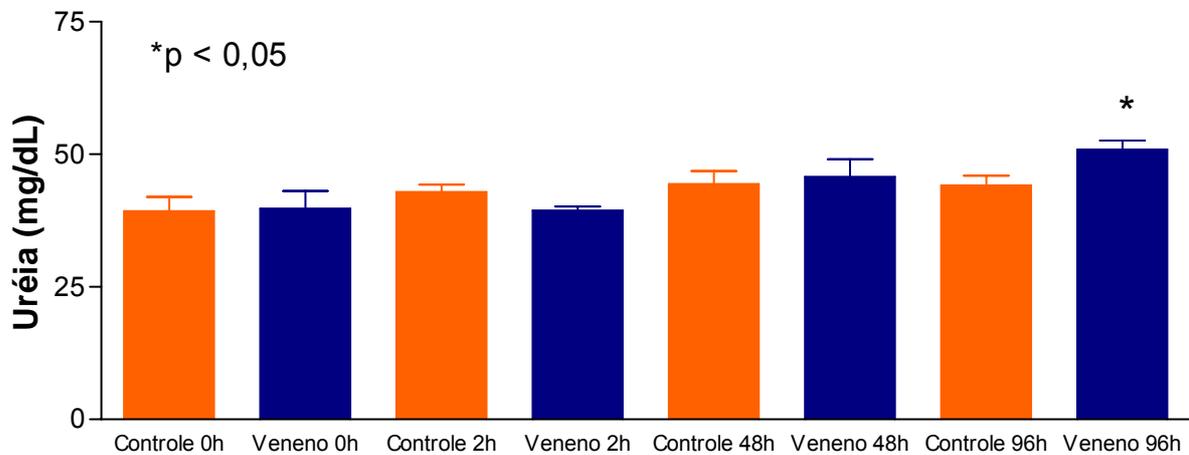


**Figura 19:** Valores de creatinina sérica (mg/dL) nos tempos 2, 48 e 96 horas após a administração de 300µg/kg de veneno de *Tityus serrulatus* (VTs) em ratos (i.p.; n=7), comparados ao controle (n = 7) com \*p<0,05.

**Tabela 5:** Valores de uréia sérica (mg/dL) nos tempos 2, 48 e 96 horas após a administração de 300 $\mu$ g/kg de veneno de *Tityus serrulatus* (VTs) em ratos (i.p.; n=7).

	Coleta 0h	Coleta 2hs	Coleta 48hs	Coleta 96hs
Controle	39,29 $\pm$ 2,70	42,91 $\pm$ 1,37	44,41 $\pm$ 2,43	44,14 $\pm$ 1,81
VTs	42,91 $\pm$ 1,37	40,74 $\pm$ 0,74	45,78 $\pm$ 3,33	50,63 $\pm$ 3,44 *

\* p<0,05 comparado ao controle no mesmo período



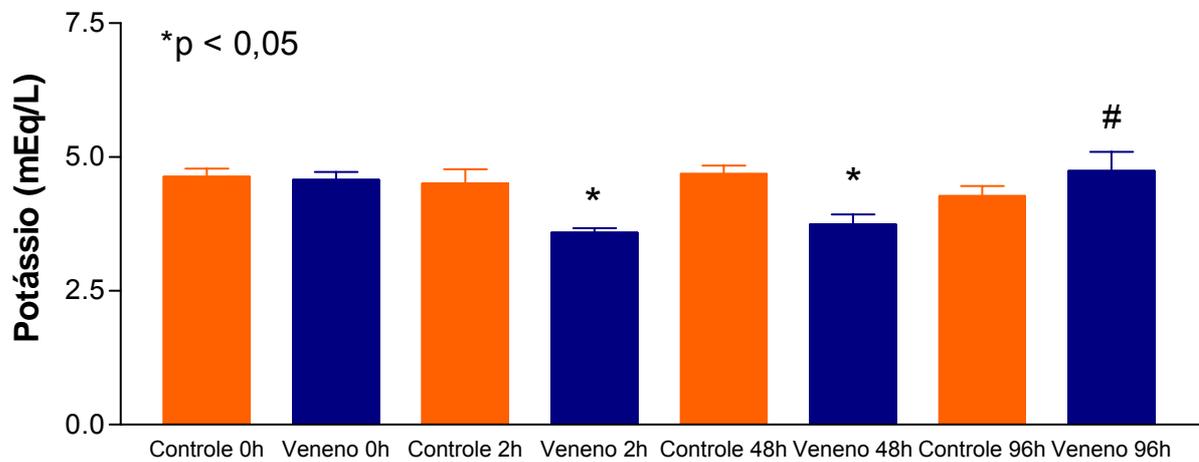
**Figura 20:** Valores de uréia sérica (mg/dL) nos tempos 2, 48 e 96 horas após a administração de 300 $\mu$ g/kg de veneno de *Tityus serrulatus* (VTs) em ratos (i.p.; n = 7), comparados ao controle (n = 7) com \*p<0,05.

**Tabela 6:** Valores de potássio sérico (mEq/L) nos tempos 2, 48 e 96 horas após a administração de 300µg/kg de veneno de *Tityus serrulatus* (VTs) em ratos (i.p.; n=7).

	Coleta 0h	Coleta 2hs	Coleta 48hs	Coleta 96hs
Controle	4,63 ± 0,15	4,50 ± 0,27	4,67 ± 0,16	4,27 ± 0,19
VTs	4,57 ± 0,15	3,58 ± 0,09 *	3,74 ± 0,19 *	4,74 ± 0,36 #

\* p<0,05 comparado ao controle no mesmo período

# p<0,05 comparado ao veneno no período de 2hs



**Figura 21:** Valores de potássio sérico (mEq/L) nos tempos 2, 48 e 96 horas após a administração de 300µg/kg de veneno de *Tityus serrulatus* (VTs) em ratos (i.p.; n = 7), comparados ao controle (n = 7) com \*p<0,05.

**Tabela 7:** Valores de sódio sérico (mEq/L) nos tempos 2, 48 e 96 horas após a administração de 300 $\mu$ g/kg de veneno de *Tityus serrulatus* (VTs) em ratos (i.p.; n=7), quando comparado ao controle (coleta anterior a administração do veneno).  $p > 0,05$ .

	Coleta 0h	Coleta 2hs	Coleta 48hs	Coleta 96hs
Controle	150,30 $\pm$ 2,02	146,80 $\pm$ 1,40	148,70 $\pm$ 1,02	159,30 $\pm$ 3,16
VTs	149,40 $\pm$ 6,98	143,00 $\pm$ 3,59	147,90 $\pm$ 1,18	155,10 $\pm$ 8,57

### 5.3 Perfusão de rim isolado

Com a realização deste estudo pode-se observar um aumento na pressão de perfusão aos 60 minutos nas três doses estudadas quando comparadas ao controle interno (C) no mesmo período (PP<sub>C</sub> = 108,27  $\pm$  4,88 mmHg; PP<sub>1 $\mu$ g/mL</sub> = 156,00  $\pm$  19,60 mmHg\*; PP<sub>3 $\mu$ g/mL</sub> = 150,10  $\pm$  18,40 mmHg\*; PP<sub>10 $\mu$ g/mL</sub> = 145,8  $\pm$  17,80 mmHg\*; \* $p < 0,05$ ). Este aumento, entretanto, foi passageiro (cessou 5 a 10 minutos após a adição do veneno) retornando aos níveis basais na concentração de 10 $\mu$ g/mL e diminuindo significativamente nas concentrações de 1 e 3 $\mu$ g/mL (tabela 8/figura 22).

A resistência vascular renal também foi aumentada significativamente aos 60 minutos de experimento (RVR<sub>C</sub> = 5,57  $\pm$  0,49 mmHg/mL.g<sup>-1</sup>.min<sup>-1</sup>; RVR<sub>1 $\mu$ g/mL</sub> = 8,35  $\pm$  1,34 mmHg/mL.g<sup>-1</sup>.min<sup>-1</sup>\*; RVR<sub>3 $\mu$ g/mL</sub> = 7,51  $\pm$  0,96 mmHg/mL.g<sup>-1</sup>.min<sup>-1</sup>\*; RVR<sub>10 $\mu$ g/mL</sub> = 7,52  $\pm$  0,86 mmHg/mL.g<sup>-1</sup>.min<sup>-1</sup>\*; \* $p < 0,05$ ), normalizando logo a seguir, conforme a tabela 9/figura 23.

A tabela 10/figura 24 demonstra o comportamento do fluxo urinário que elevou-se aos 60 minutos nas concentrações de 1 e 3 $\mu$ g/mL de VTs (FU<sub>C</sub> = 0,158  $\pm$  0,015 mL.g<sup>-1</sup>.min<sup>-1</sup>; FU<sub>1 $\mu$ g/mL</sub> = 0,194  $\pm$  0,019 mL.g<sup>-1</sup>.min<sup>-1</sup>\*; FU<sub>3 $\mu$ g/mL</sub> = 0,182  $\pm$  0,015 mL.g<sup>-1</sup>.min<sup>-1</sup>\*; \* $p < 0,05$ ). A concentração de 10 $\mu$ g/mL, ao contrário, reduziu o fluxo urinário neste período (FU<sub>10 $\mu$ g/mL</sub> = 0,131  $\pm$  0,018 mL.g<sup>-1</sup>.min<sup>-1</sup>\*; \* $p < 0,05$ ). A

partir disto o fluxo foi significativamente reduzido nas três concentrações administradas.

O ritmo de filtração glomerular foi significativamente aumentado aos 60 minutos pelas concentrações de 1 e 3 µg/mL ( $RFG_C = 0,707 \pm 0,051 \text{ mL.g}^{-1}.\text{min}^{-1}$ ;  $RFG_{1\mu\text{g/mL}} = 1,004 \pm 0,165 \text{ mL.g}^{-1}.\text{min}^{-1}$ \*;  $RFG_{3\mu\text{g/mL}} = 0,890 \pm 0,104 \text{ mL.g}^{-1}.\text{min}^{-1}$ \*; \* $p < 0,05$ ), enquanto não mostrou alterações com a concentração de 10 µg/mL. Entretanto, aos 90 minutos houve um decréscimo deste parâmetro induzido somente pela menor dose de VTs (1 µg/mL) e aos 120 minutos, a três doses do veneno de *T. serrulatus* reduziram significativamente o RFG, conforme pode ser observado na tabela 11/figura 25.

O transporte tubular de sódio foi alterado somente aos 90 minutos de perfusão sofrendo elevação significativa com a concentração de 3 µg/mL de VTs ( $\%TNa^+_C = 79,26 \pm 0,90\%$ ;  $\%TNa^+_{1\mu\text{g/mL}} = 78,49 \pm 1,78\%$ ;  $\%TNa^+_{3\mu\text{g/mL}} = 82,70 \pm 0,75\%$ \*;  $\%TNa^+_{10\mu\text{g/mL}} = 80,97 \pm 1,35\%$ ; \* $p < 0,05$ ), que foi mantido aos 120 minutos. A menor concentração (1 µg/mL), entretanto, promoveu uma diminuição do transporte ao final do experimento (tabela 12/figura 26).

O transporte de potássio não foi afetado por nenhuma das concentrações de veneno administradas, conforme tabela 13/figura 27.

De acordo com a tabela 14/figura 28, houve uma redução significativa do transporte de cloretos ocasionada aos 60 minutos pela administração de VTs nas concentrações de 1 e 3 µg/mL ( $\%TCl^-_C = 81,25 \pm 2,44\%$ ;  $\%TCl^-_{1\mu\text{g/mL}} = 73,16 \pm 4,61\%$ \*;  $\%TCl^-_{3\mu\text{g/mL}} = 76,02 \pm 2,32\%$ \*; \* $p < 0,05$ ), enquanto aos 120 minutos houve diminuição significativa do transporte de cloreto induzida por 1 µg/mL de VTs ( $\%TCl^-_C = 78,53 \pm 2,33\%$ ;  $\%TCl^-_{1\mu\text{g/mL}} = 68,48 \pm 4,49\%$ \*; \* $p < 0,05$ ).

O transporte tubular proximal de sódio, tabela 15/figura 29, foi reduzido aos 90 ( $\%pTNa^+_C = 77,33 \pm 1,33\%$ ;  $\%pTNa^+_{1\mu\text{g/mL}} = 73,91 \pm 2,08\%$ \*; \* $p < 0,05$ ) e 120 minutos na concentração de 1 µg/mL ( $\%pTNa^+_C = 78,18 \pm 1,97\%$ ;  $\%pTNa^+_{1\mu\text{g/mL}} = 71,18 \pm 1,96\%$ \*; \* $p < 0,05$ ).

Avaliando o transporte tubular proximal de potássio (tabela 16/figura 30), verificamos que a concentração de 10µg/mL de VTs elevou o transporte aos 90 minutos ( $\%pTK^+_C = 50,66 \pm 4,57\%$ ;  $\%pTK^+_{10\mu\text{g/mL}} = 59,79 \pm 2,88\%^*$ ;  $*p<0,05$ ) enquanto o mesmo foi reduzido aos 120 minutos pela concentração de 1µg/mL ( $\%pTNa^+_C = 52,30 \pm 2,08\%$ ;  $\%pTNa^+_{1\mu\text{g/mL}} = 44,34 \pm 4,18\%^*$ ;  $*p<0,05$ ).

Houve uma redução significativa do transporte tubular proximal de cloretos causada pela concentração de 1µg/mL de VTs nos tempos de 90 ( $\%pTCl^-_C = 76,58 \pm 1,20\%$ ;  $\%pTCl^-_{1\mu\text{g/mL}} = 66,69 \pm 4,62\%^*$ ;  $*p<0,05$ ) e 120 minutos ( $\%pTCl^-_C = 76,36 \pm 2,47\%$ ;  $\%pTCl^-_{1\mu\text{g/mL}} = 64,33 \pm 4,91\%^*$ ;  $*p<0,05$ ) de experimento, como pode ser observado na tabela 17/figura 31.

A tabela 18/figura 32 mostra a excreção de sódio onde houve um aumento significativo aos 60 minutos após a administração de VTs 1 e 3µg/mL ( $ENa^+_C = 14,24 \pm 1,72 \mu\text{Eq.g}^{-1}.\text{min}^{-1}$ ;  $ENa^+_{1\mu\text{g/mL}} = 22,20 \pm 3,21 \mu\text{Eq.g}^{-1}.\text{min}^{-1*}$ ;  $ENa^+_{3\mu\text{g/mL}} = 21,03 \pm 3,14 \mu\text{Eq.g}^{-1}.\text{min}^{-1*}$ ;  $*p<0,05$ ), seguida de uma diminuição da excreção induzida pelas dose de 0,1 e 10µg/mL nos tempos de 90 ( $ENa^+_C = 16,87 \pm 2,18 \mu\text{Eq.g}^{-1}.\text{min}^{-1}$ ;  $ENa^+_{1\mu\text{g/mL}} = 13,39 \pm 1,19 \mu\text{Eq.g}^{-1}.\text{min}^{-1*}$ ;  $ENa^+_{10\mu\text{g/mL}} = 11,64 \pm 2,07 \mu\text{Eq.g}^{-1}.\text{min}^{-1*}$ ;  $*p<0,05$ ) e que foi mantido aos 120 minutos.

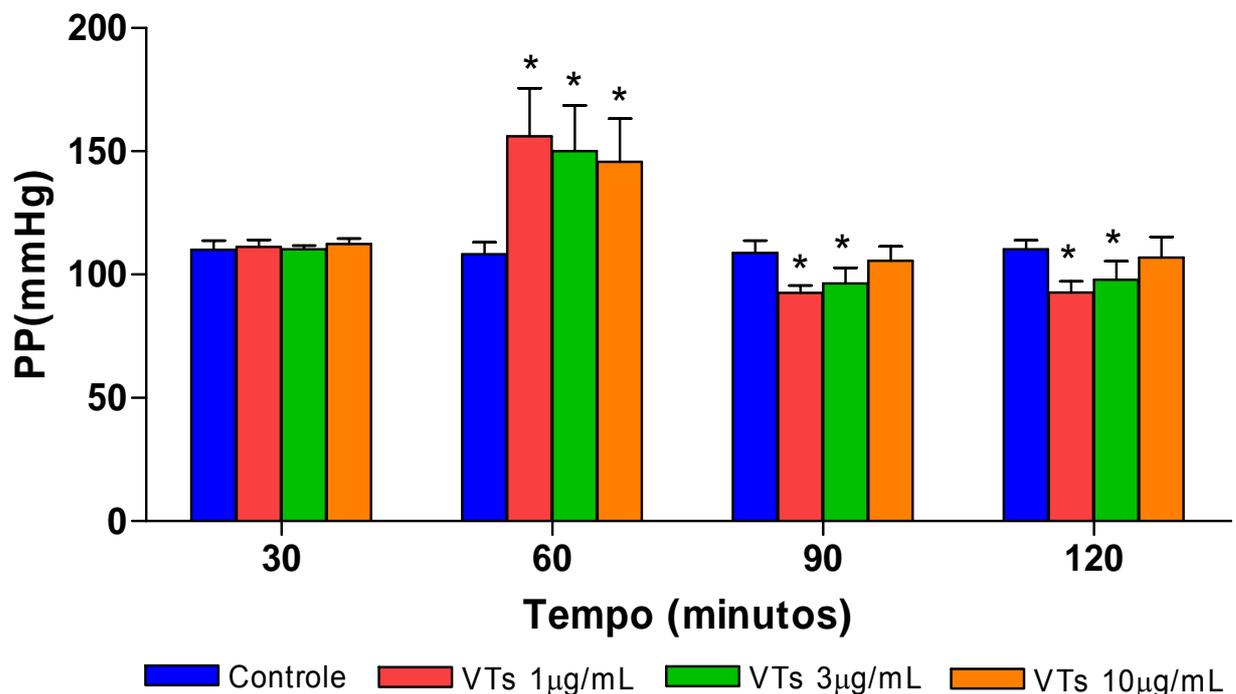
A excreção de potássio (tabela 19/figura 33) foi significativamente diminuída pelas três concentrações de veneno administradas, nos tempos de 90 ( $EK^+_C = 0,90 \pm 0,05 \mu\text{Eq.g}^{-1}.\text{min}^{-1}$ ;  $EK^+_{1\mu\text{g/mL}} = 0,72 \pm 0,07 \mu\text{Eq.g}^{-1}.\text{min}^{-1*}$ ;  $EK^+_{3\mu\text{g/mL}} = 0,58 \pm 0,14 \mu\text{Eq.g}^{-1}.\text{min}^{-1*}$ ;  $EK^+_{10\mu\text{g/mL}} = 0,70 \pm 0,11 \mu\text{Eq.g}^{-1}.\text{min}^{-1*}$ ;  $*p<0,05$ ) e 120 minutos ( $EK^+_C = 0,84 \pm 0,06 \mu\text{Eq.g}^{-1}.\text{min}^{-1}$ ;  $EK^+_{1\mu\text{g/mL}} = 0,56 \pm 0,11 \mu\text{Eq.g}^{-1}.\text{min}^{-1*}$ ;  $EK^+_{3\mu\text{g/mL}} = 0,55 \pm 0,14 \mu\text{Eq.g}^{-1}.\text{min}^{-1*}$ ;  $EK^+_{10\mu\text{g/mL}} = 0,64 \pm 0,10 \mu\text{Eq.g}^{-1}.\text{min}^{-1*}$ ;  $*p<0,05$ ).

O cloreto excretado não mostrou alterações com a adição de VTs em nenhuma das concentrações, quando comparado ao controle interno, conforme a tabela 20/figura 34.

**Tabela 8:** Pressão de Perfusão (PP; mmHg) nos grupos controle (n = 6) e tratados (n = 6) com veneno de *Tityus serrulatus* (VTs) nas concentrações de 1, 3 e 10 µg/mL.

Tempo (minutos)	30'	60'	90'	120'
Controle	110,11 ± 3,68	108,27 ± 4,88	108,69 ± 5,09	110,28 ± 3,69
VTs 1µg/mL	111,20 ± 2,80	156,00 ± 19,60 *	92,60 ± 3,00 *	92,70 ± 4,50 *
VTs 3µg/mL	113,30 ± 1,40	150,10 ± 18,40 *	96,40 ± 6,40 *	97,90 ± 7,50 *
VTs 10µg/mL	112,40 ± 2,20	145,80 ± 17,40 *	105,60 ± 5,80	106,90 ± 8,40

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

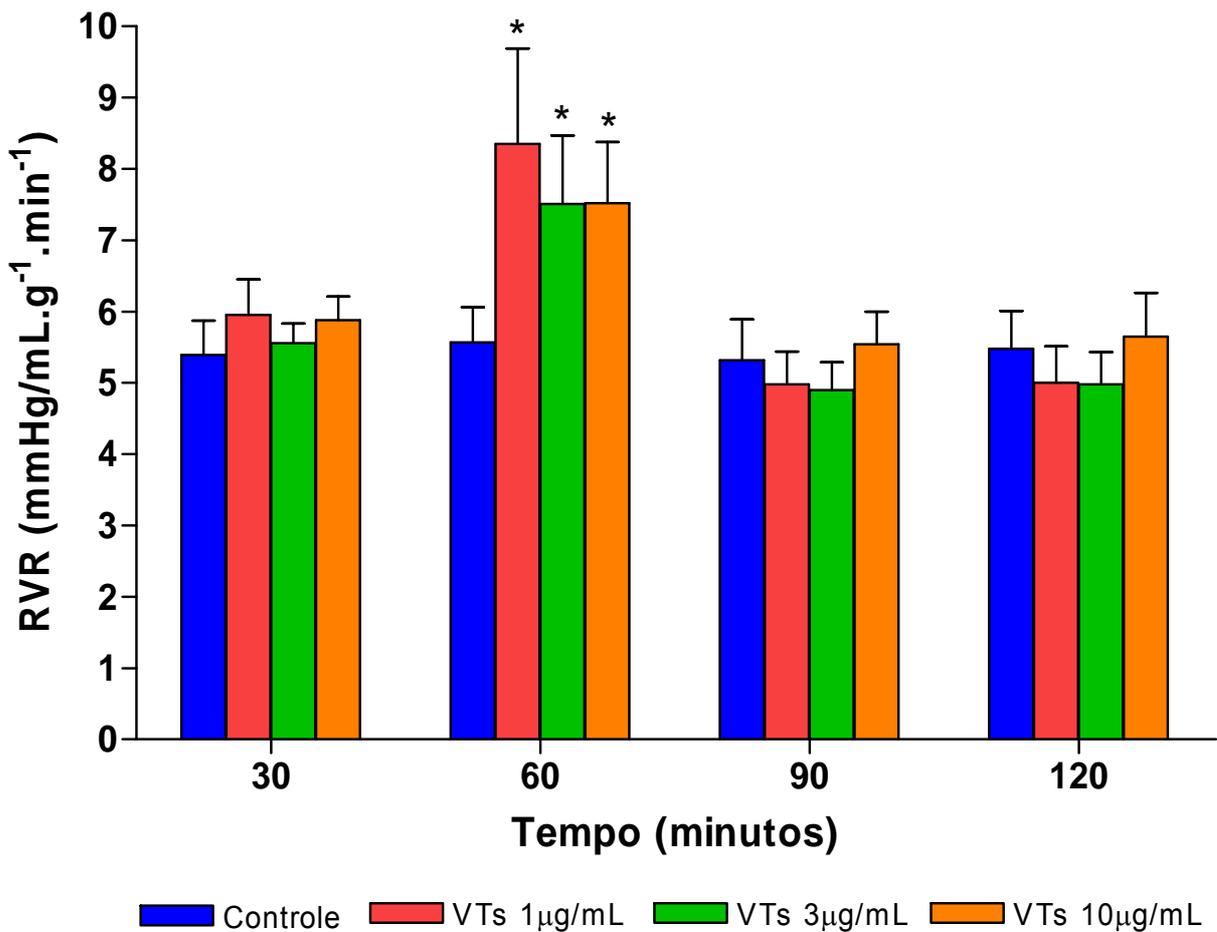


**Figura 22:** Pressão de Perfusão (PP) nos grupos controle (n = 6) e tratados (n = 6) com veneno de *Tityus serrulatus* (VTs) nas concentrações de 1, 3 e 10 µg/mL. Valores comparados ao controle nos mesmos períodos com p<0,05.

**Tabela 9:** Resistência Vascular Renal (RVR) nos grupos controle (n = 6) e tratados (n=6) com veneno de *Tityus serrulatus* (VTs) nas concentrações de 1, 3 e 10 µg/mL.

Tempo (minutos)	30'	60'	90'	120'
Controle	5,39 ± 0,48	5,57 ± 0,49	5,32 ± 0,57	5,48 ± 0,53
VTs 1µg/mL	5,95 ± 0,50	8,35 ± 1,34 *	4,98 ± 0,46	5,00 ± 0,51
VTs 3µg/mL	5,56 ± 0,27	7,51 ± 0,96 *	4,90 ± 0,39	4,98 ± 0,45
VTs 10µg/mL	5,88 ± 0,33	7,52 ± 0,86 *	5,54 ± 0,46	5,65 ± 0,61

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

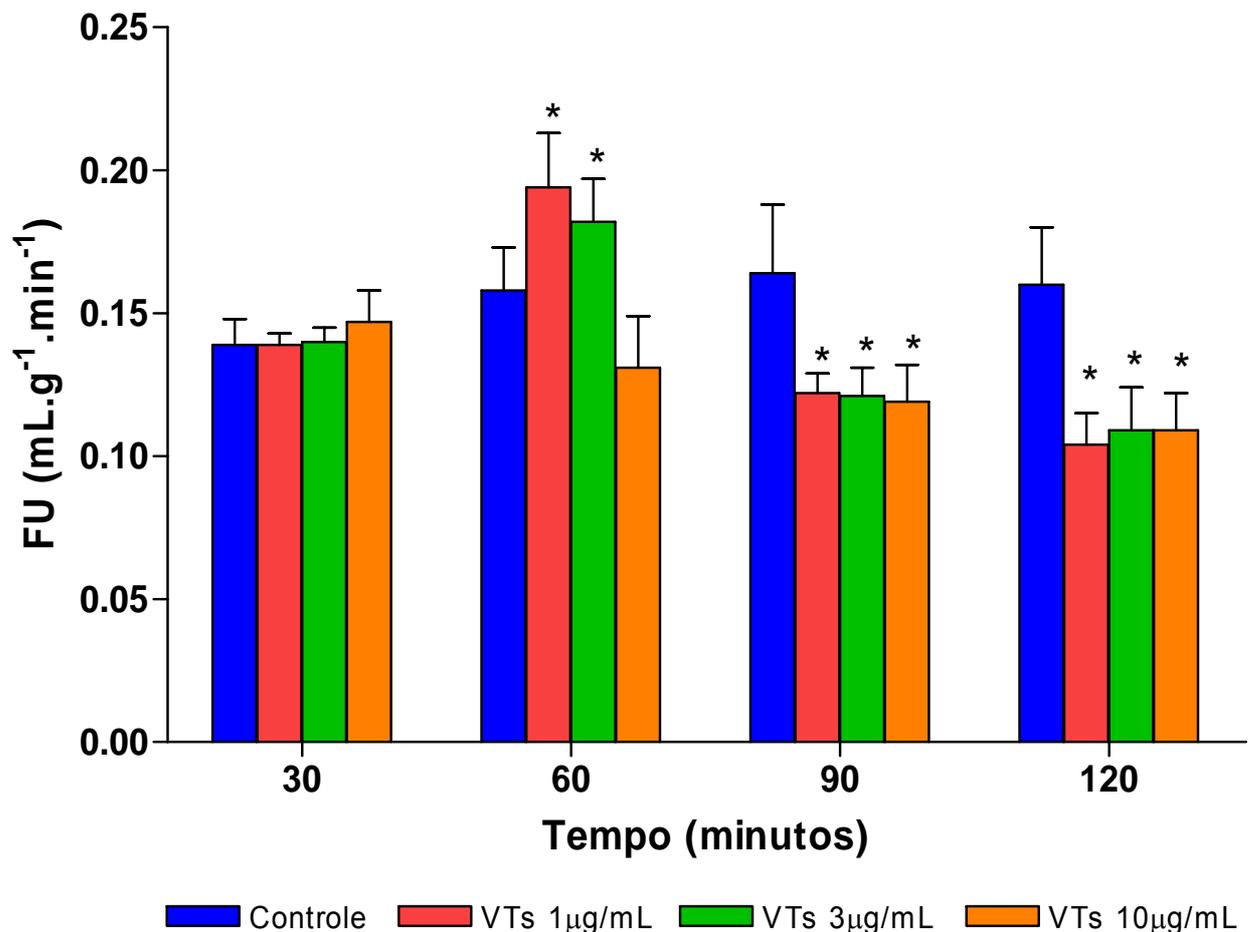


**Figura 23:** Resistência Vascular Renal (RVR) nos grupos controle (n = 6) e tratados (n=6) com veneno de *Tityus serrulatus* (VTs) nas concentrações de 1, 3 e 10 µg/mL. Valores comparados ao controle nos mesmos períodos com p<0,05.

**Tabela 10:** Fluxo Urinário (FU) nos grupos controle (n = 6) e tratados (n = 6) com veneno de *Tityus serrulatus* (VTs) nas concentrações de 1, 3 e 10 µg/mL

Tempo (minutos)	30'	60'	90'	120'
Controle	0,139 ± 0,009	0,158 ± 0,015	0,164 ± 0,027	0,160 ± 0,020
VTs 1µg/mL	0,139 ± 0,004	0,194 ± 0,019 *	0,122 ± 0,007 *	0,104 ± 0,011 *
VTs 3µg/mL	0,140 ± 0,005	0,182 ± 0,015 *	0,121 ± 0,010 *	0,109 ± 0,015 *
VTs 10µg/mL	0,147 ± 0,011	0,131 ± 0,018	0,119 ± 0,013 *	0,109 ± 0,013 *

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

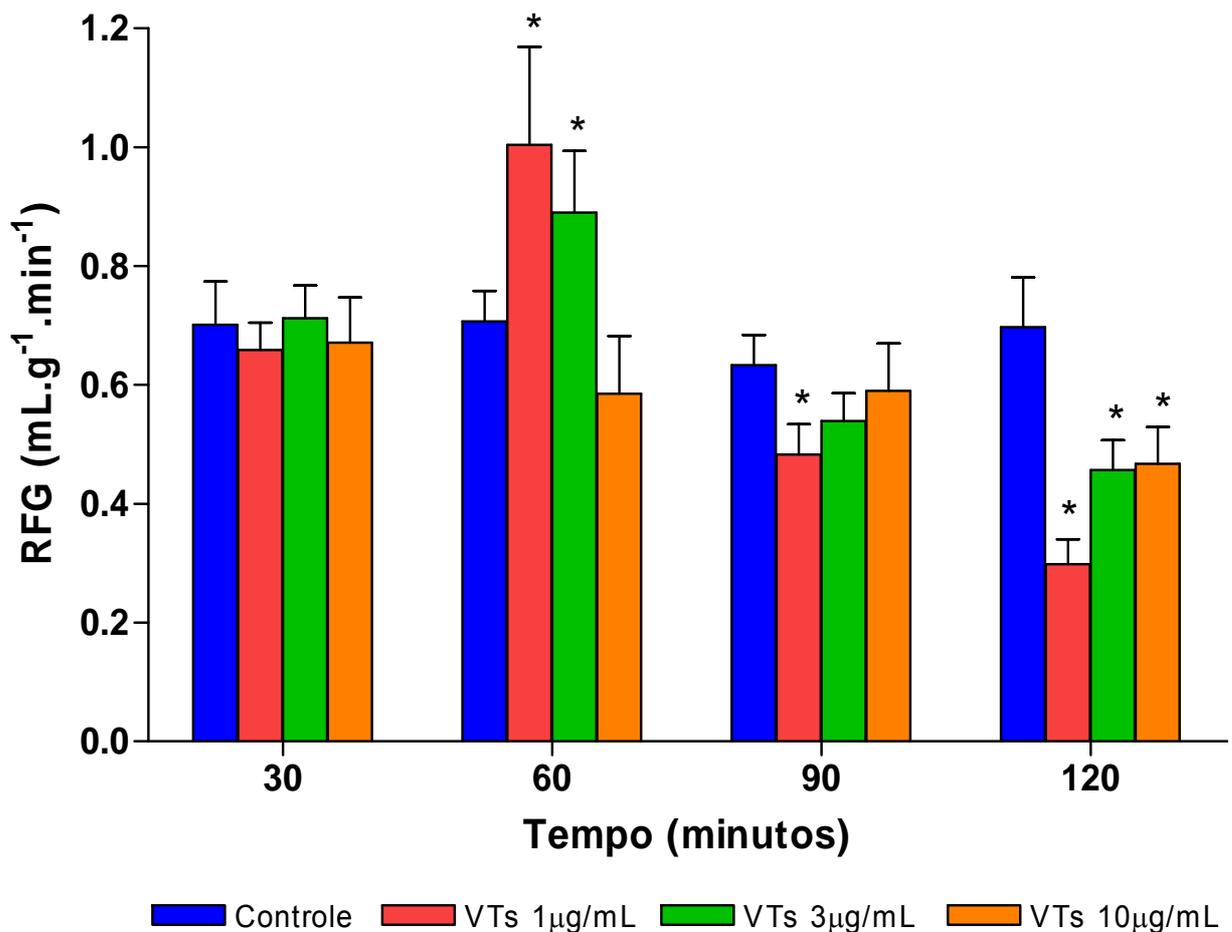


**Figura 24:** Fluxo Urinário (FU) nos grupos controle (n = 6) e tratados (n = 6) com veneno de *Tityus serrulatus* (VTs) nas concentrações de 1, 3 e 10 µg/mL. Valores comparados ao controle nos mesmos períodos com p<0,05.

**Tabela 11:** Ritmo de Filtração Glomerular (RFG) nos grupos controle (n = 6) e tratados (n = 6) com veneno de *Tityus serrulatus* (VTs) nas concentrações de 1, 3 e 10  $\mu\text{g/mL}$ .

Tempo (minutos)	30'	60'	90'	120'
Controle	0,701 $\pm$ 0,073	0,707 $\pm$ 0,051	0,633 $\pm$ 0,051	0,697 $\pm$ 0,084
VTs 1 $\mu\text{g/mL}$	0,659 $\pm$ 0,046	1,004 $\pm$ 0,165 *	0,483 $\pm$ 0,051 *	0,298 $\pm$ 0,042 *
VTs 3 $\mu\text{g/mL}$	0,712 $\pm$ 0,055	0,890 $\pm$ 0,104 *	0,539 $\pm$ 0,047	0,457 $\pm$ 0,050 *
VTs 10 $\mu\text{g/mL}$	0,671 $\pm$ 0,076	0,585 $\pm$ 0,097	0,590 $\pm$ 0,080	0,467 $\pm$ 0,062 *

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

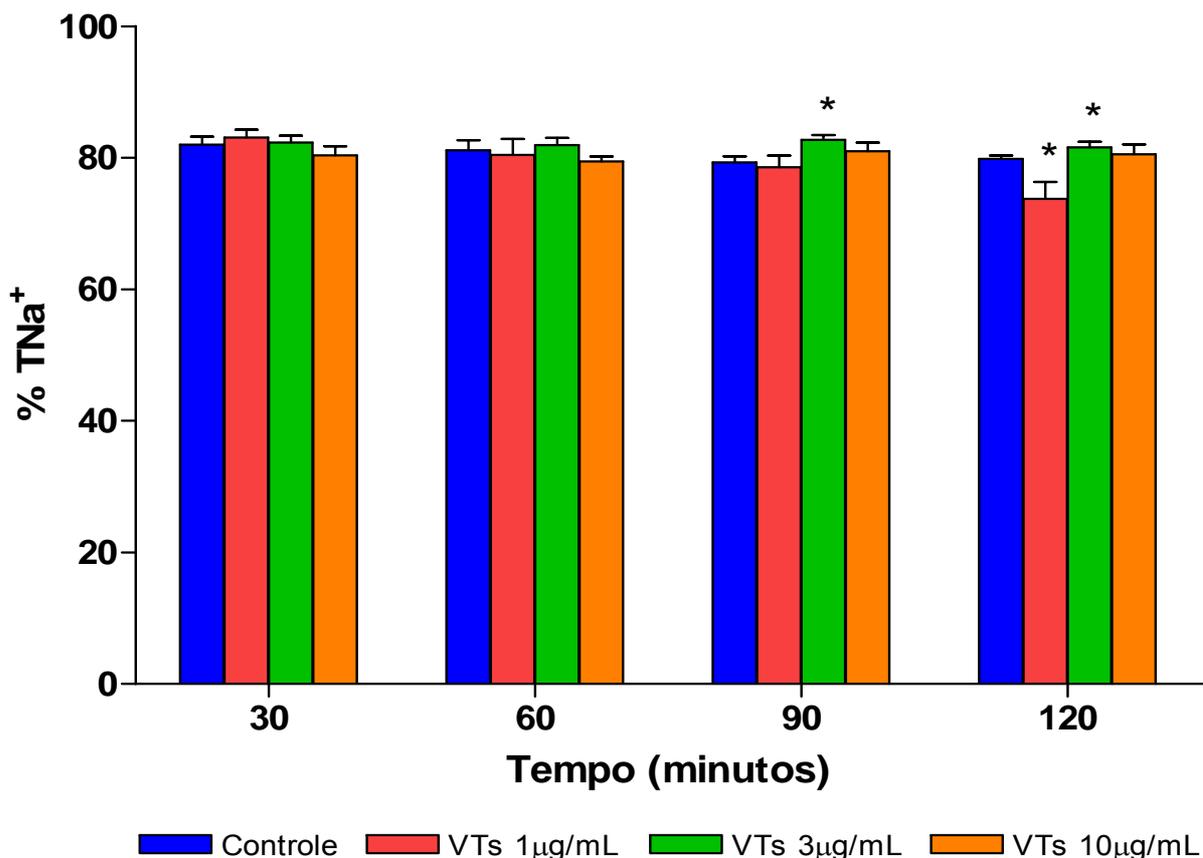


**Figura 25:** Ritmo de Filtração Glomerular (RFG) nos grupos controle (n = 6) e tratados (n = 6) com veneno de *Tityus serrulatus* (VTs) nas concentrações de 1, 3 e 10  $\mu\text{g/mL}$ . Valores comparados ao controle nos mesmos períodos com  $p < 0,05$ .

**Tabela 12:** Percentual de Transporte Tubular de Sódio (%TNa<sup>+</sup>) nos grupos controle (n = 6) e tratados (n = 6) com veneno de *Tityus serrulatus* (VTs) nas concentrações de 1, 3 e 10 µg/mL.

Tempo (minutos)	30'	60'	90'	120'
Controle	81,94 ± 1,24	81,11 ± 1,52	79,26 ± 0,90	79,76 ± 0,56
VTs 1µg/mL	83,05 ± 1,21	80,39 ± 2,43	78,49 ± 1,78	73,74 ± 2,57 *
VTs 3µg/mL	82,28 ± 1,05	81,88 ± 1,12	82,70 ± 0,75 *	81,56 ± 0,87 *
VTs 10µg/mL	80,37 ± 1,38	79,44 ± 0,73	80,97 ± 1,35	80,54 ± 1,49

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

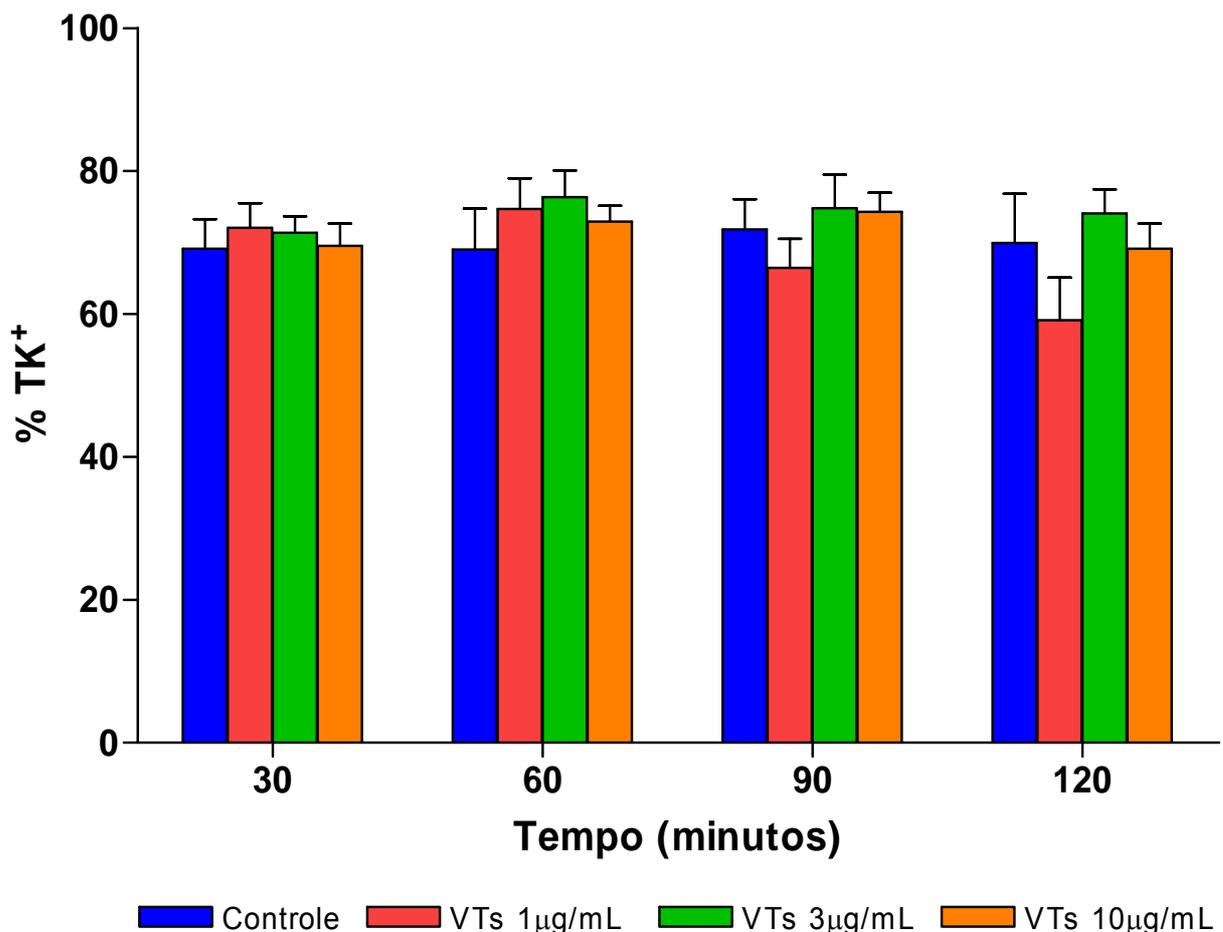


**Figura 26:** Percentual de Transporte Tubular de Sódio (%TNa<sup>+</sup>) nos grupos controle (n = 6) e tratados (n = 6) com veneno de *Tityus serrulatus* (VTs) nas concentrações de 1, 3 e 10 µg/mL. Valores comparados ao controle nos mesmos períodos com p<0,05.

**Tabela 13:** Percentual de Transporte Tubular de Potássio (%TK<sup>+</sup>) nos grupos controle (n = 6) e tratados (n = 6) com veneno de *Tityus serrulatus* (VTs) nas concentrações de 1, 3 e 10 µg/mL.

Tempo (minutos)	30'	60'	90'	120'
Controle	69,13 ± 4,14	69,04 ± 5,68	71,84 ± 4,21	69,94 ± 6,86
VTs 1µg/mL	72,05 ± 3,45	74,71 ± 4,29	66,43 ± 4,06	59,10 ± 5,96
VTs 3µg/mL	71,36 ± 2,29	76,34 ± 3,74	74,80 ± 4,68	74,04 ± 3,38
VTs 10µg/mL	69,54 ± 3,11	72,92 ± 2,20	74,26 ± 2,71	69,15 ± 3,46

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

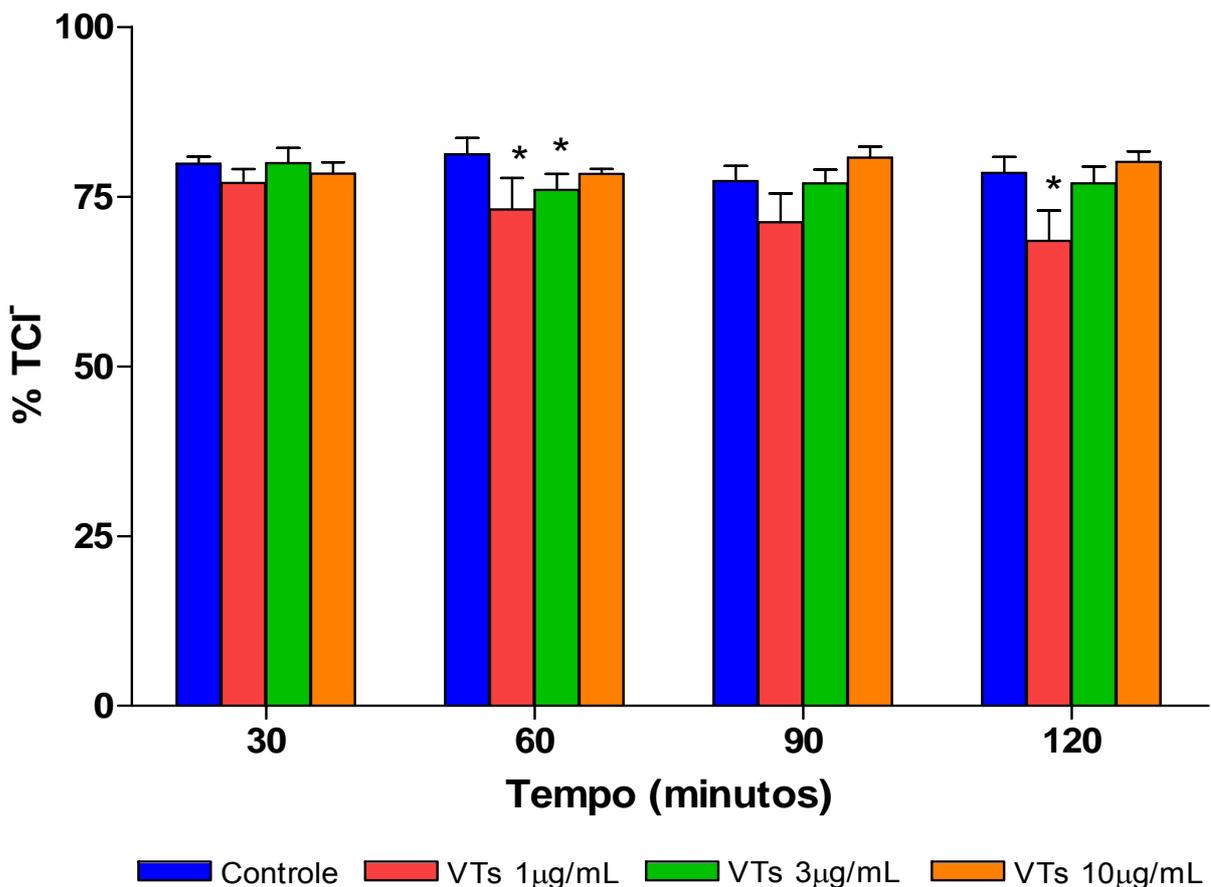


**Figura 27:** Percentual de Transporte Tubular de Potássio (%TK<sup>+</sup>) nos grupos controle (n = 6) e tratados (n = 6) com veneno de *Tityus serrulatus* (VTs) nas concentrações de 1, 3 e 10 µg/mL. Valores comparados ao controle nos mesmos períodos com p<0,05.

**Tabela 14:** Percentual de Transporte Tubular de Cloreto (%TCI<sup>-</sup>) nos grupos controle (n = 6) e tratados (n = 6) com veneno de *Tityus serrulatus* (VTs) nas concentrações de 1, 3 e 10 µg/mL.

Tempo (minutos)	30'	60'	90'	120'
Controle	79,90 ± 1,03	81,25 ± 2,44	77,32 ± 2,22	78,53 ± 2,33
VTs 1µg/mL	77,04 ± 2,04	73,76 ± 4,61 *	71,27 ± 4,23	68,48 ± 4,49 *
VTs 3µg/mL	79,92 ± 2,26	76,02 ± 2,32 *	76,99 ± 2,00	76,96 ± 2,45
VTs 10µg/mL	78,39 ± 1,70	78,33 ± 0,78	80,77 ± 1,57	80,13 ± 1,55

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

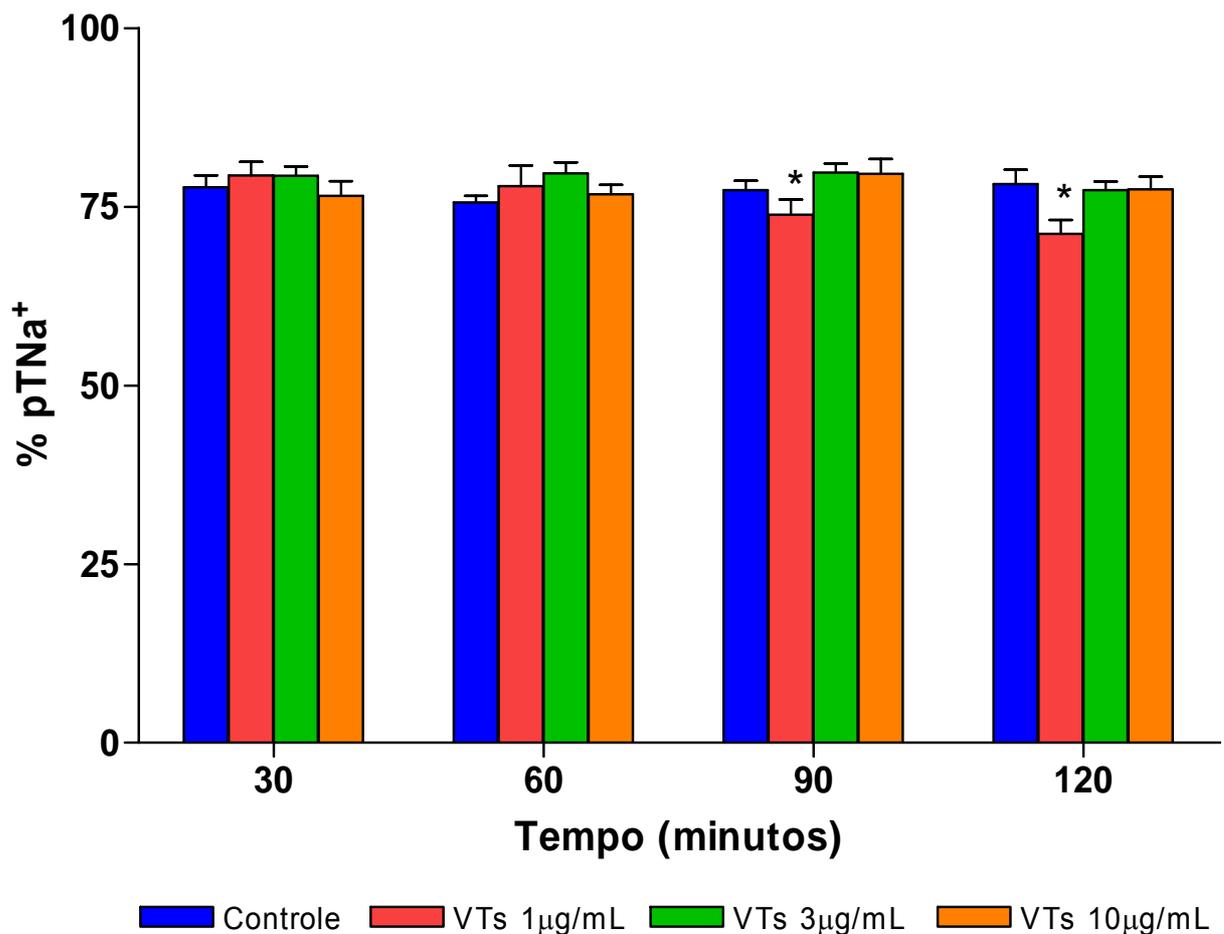


**Figura 28:** Percentual de Transporte Tubular de Cloreto (%TCI<sup>-</sup>) nos grupos controle (n = 6) e tratados (n = 6) com veneno de *Tityus serrulatus* (VTs) nas concentrações de 1, 3 e 10 µg/mL. Valores comparados ao controle nos mesmos períodos com p<0,05.

**Tabela 15:** Percentual de Transporte Tubular Proximal de Sódio (%pTNa<sup>+</sup>) nos grupos controle (n = 6) e tratados (n = 6) com veneno de *Tityus serrulatus* (VTs) nas concentrações de 1, 3 e 10 µg/mL.

Tempo (minutos)	30'	60'	90'	120'
Controle	77,69 ± 1,68	75,59 ± 0,90	77,33 ± 1,33	78,18 ± 1,97
VTs 1µg/mL	79,36 ± 1,90	77,90 ± 2,84	73,91 ± 2,08 *	71,18 ± 1,96 *
VTs 3µg/mL	79,33 ± 1,28	79,65 ± 1,57	79,80 ± 1,23	77,34 ± 1,15
VTs 10µg/mL	76,49 ± 2,09	76,74 ± 1,31	76,60 ± 2,05	77,41 ± 1,81

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

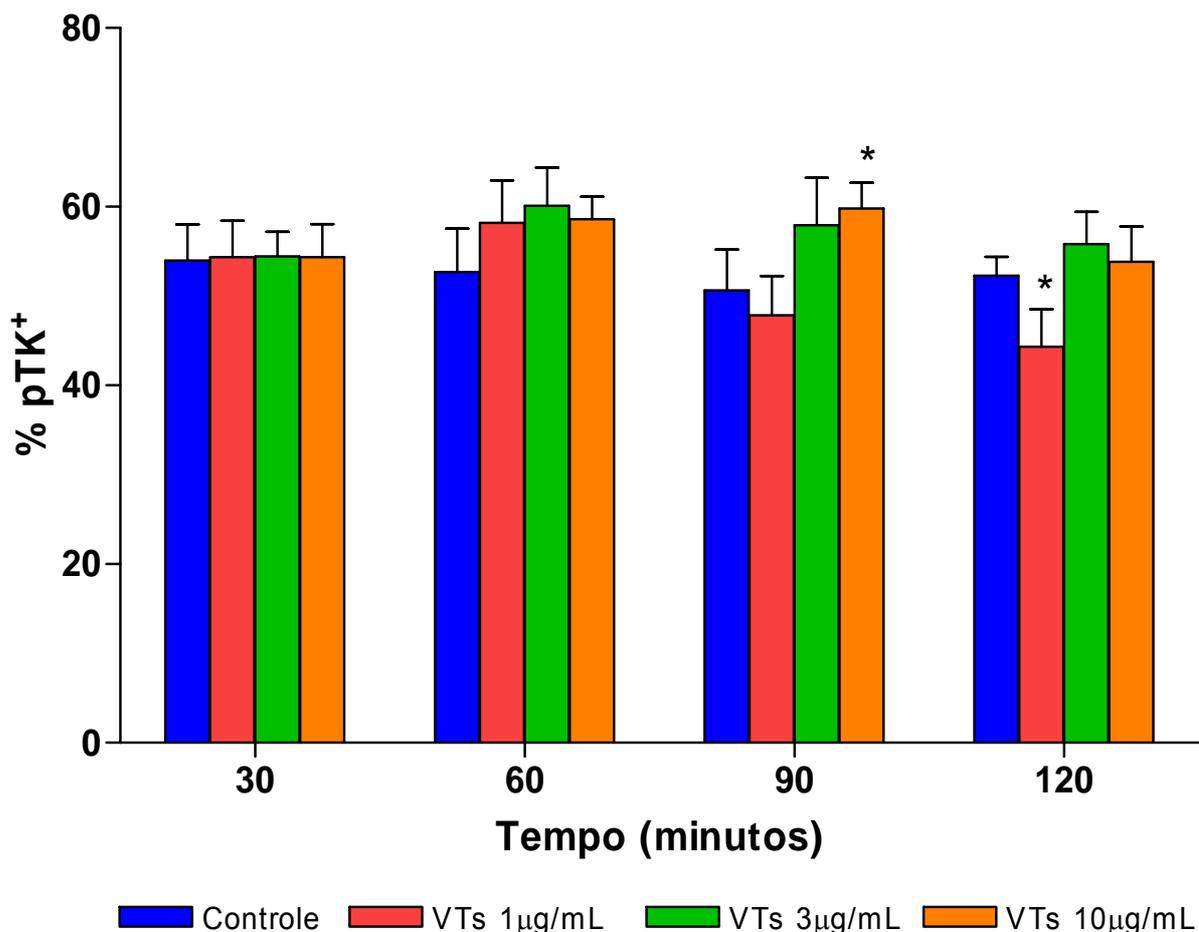


**Figura 29:** Percentual de Transporte Tubular Proximal de Sódio (%pTNa<sup>+</sup>) nos grupos controle (n = 6) e tratados (n = 6) com veneno de *Tityus serrulatus* (VTs) nas concentrações de 1, 3 e 10 µg/mL. Valores comparados ao controle nos mesmos períodos com p<0,05.

**Tabela 16:** Percentual de Transporte Tubular Proximal de Potássio (%pTK<sup>+</sup>) nos grupos controle (n = 6) e tratados (n = 6) com veneno de *Tityus serrulatus* (VTs) nas concentrações de 1, 3 e 10 µg/mL.

Tempo (minutos)	30'	60'	90'	120'
Controle	53,98 ± 4,05	52,68 ± 4,86	50,66 ± 4,57	52,30 ± 2,08
VTs 1µg/mL	54,36 ± 4,05	58,21 ± 4,74	47,86 ± 4,36	44,34 ± 4,18 *
VTs 3µg/mL	54,42 ± 2,76	60,11 ± 4,28	57,90 ± 5,33	55,82 ± 3,60
VTs 10µg/mL	54,33 ± 3,74	58,62 ± 2,49	59,79 ± 2,88 *	53,84 ± 3,96

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

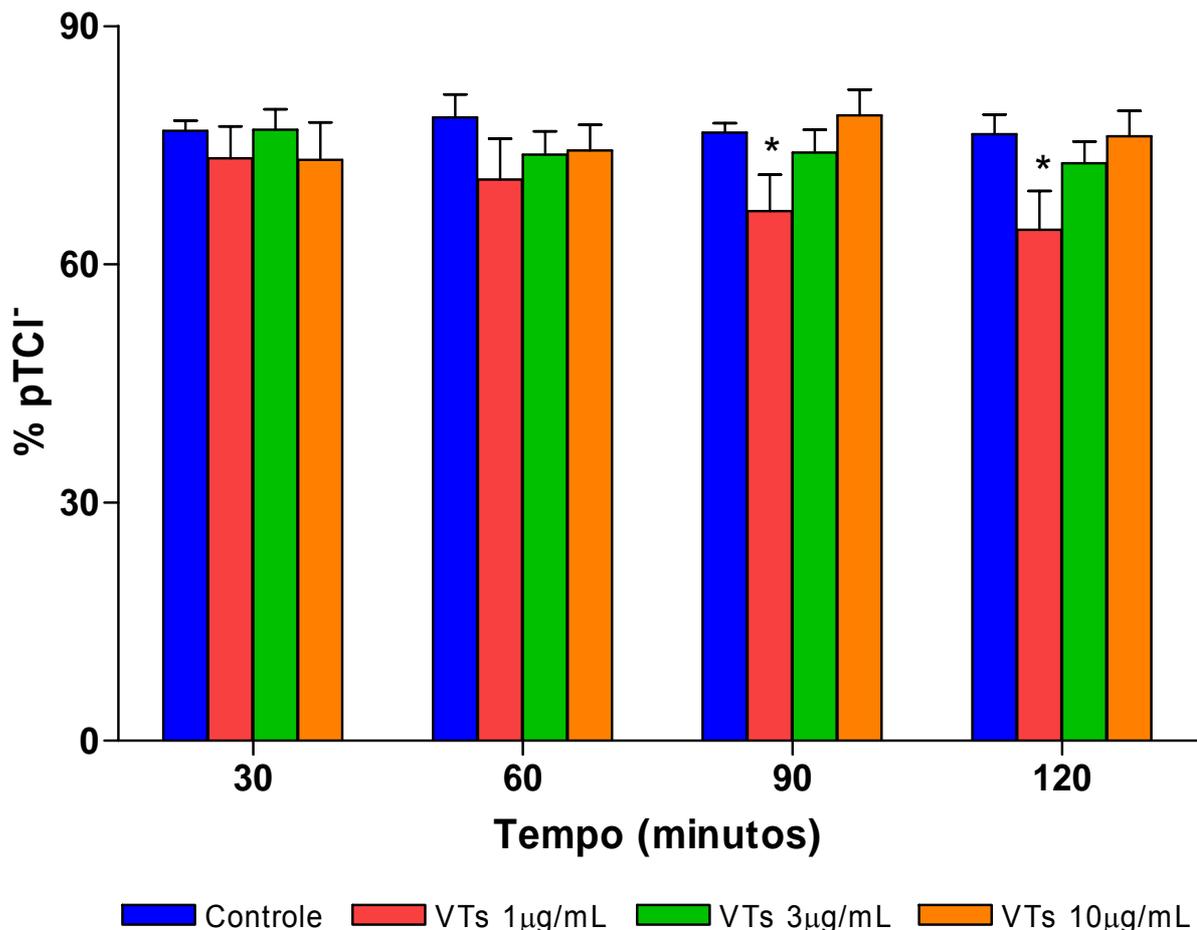


**Figura 30:** Percentual de Transporte Tubular Proximal de Potássio (%pTK<sup>+</sup>) nos grupos controle (n = 6) e tratados (n = 6) com veneno de *Tityus serrulatus* (VTs) nas concentrações de 1, 3 e 10 µg/mL. Valores comparados ao controle nos mesmos períodos com p<0,05.

**Tabela 17:** Percentual de Transporte Tubular Proximal de Cloreto (%pTCl<sup>-</sup>) nos grupos controle (n = 6) e tratados (n = 6) com veneno de *Tityus serrulatus* (VTs) nas concentrações de 1, 3 e 10 µg/mL.

Tempo (minutos)	30'	60'	90'	120'
Controle	76,81 ± 1,25	78,49 ± 2,90	76,58 ± 1,20	76,36 ± 2,47
VTs 1µg/mL	73,35 ± 4,00	70,66 ± 5,17	66,69 ± 4,62 *	64,33 ± 4,91 *
VTs 3µg/mL	76,97 ± 2,57	73,79 ± 2,93	74,09 ± 2,87	72,74 ± 2,71
VTs 10µg/mL	73,16 ± 4,69	74,34 ± 3,23	78,75 ± 3,24	76,10 ± 3,22

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

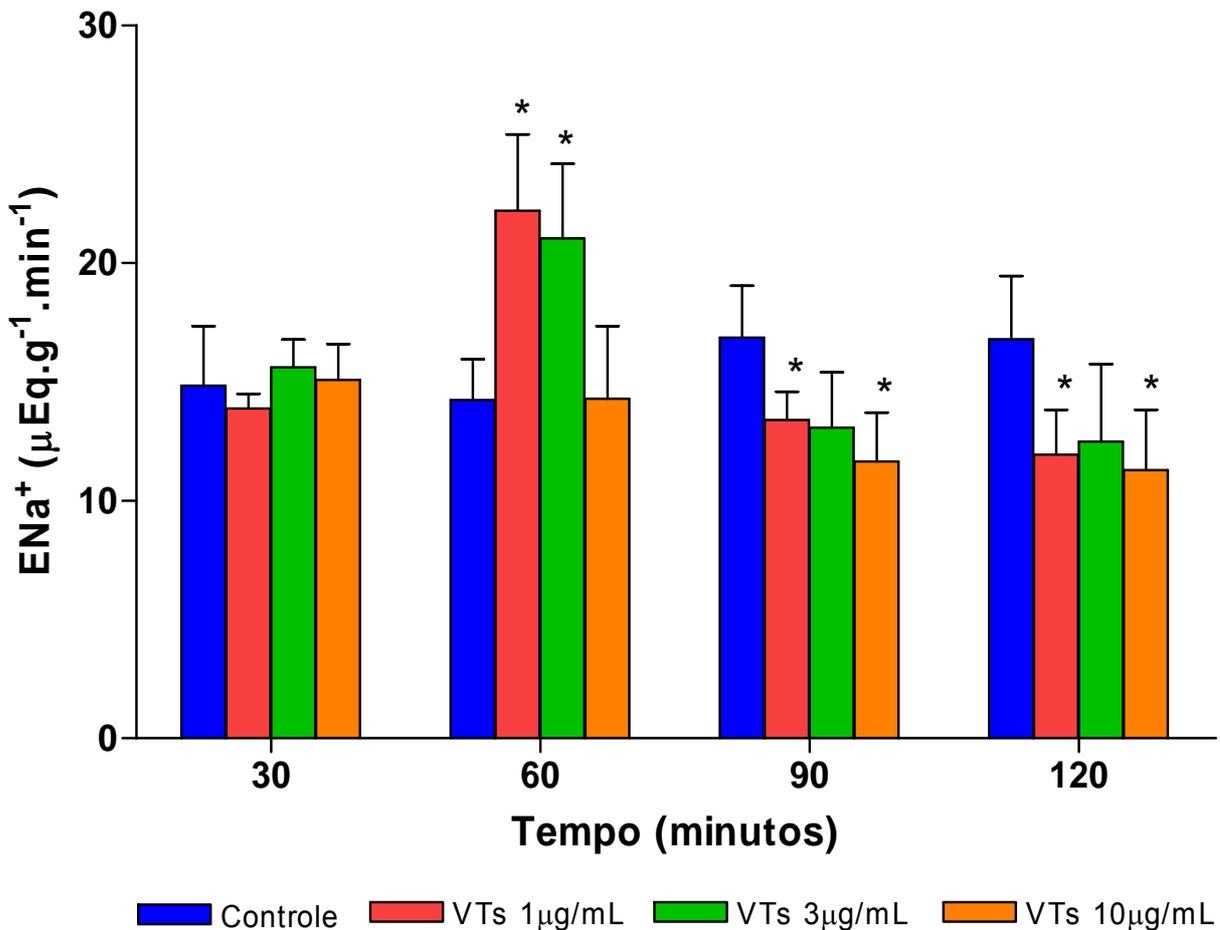


**Figura 31:** Percentual de Transporte Tubular Proximal de Cloreto (%pTCl<sup>-</sup>) nos grupos controle (n = 6) e tratados (n = 6) com veneno de *Tityus serrulatus* (VTs) nas concentrações de 1, 3 e 10 µg/mL. Valores comparados ao controle nos mesmos períodos com p<0,05.

**Tabela 18:** Excreção de Sódio ( $\text{ENa}^+$ ) nos grupos controle ( $n = 6$ ) e tratados ( $n = 6$ ) com veneno de *Tityus serrulatus* (VTs) nas concentrações de 1, 3 e 10  $\mu\text{g/mL}$ .

Tempo (minutos)	30'	60'	90'	120'
Controle	$14,84 \pm 2,51$	$14,24 \pm 1,72$	$16,87 \pm 2,18$	$16,80 \pm 2,66$
VTs 1 $\mu\text{g/mL}$	$13,88 \pm 0,61$	$22,20 \pm 3,21^*$	$13,39 \pm 1,19^*$	$11,94 \pm 1,89^*$
VTs 3 $\mu\text{g/mL}$	$15,61 \pm 1,16$	$21,03 \pm 3,14^*$	$13,07 \pm 2,34$	$12,48 \pm 3,26$
VTs 10 $\mu\text{g/mL}$	$15,08 \pm 1,50$	$14,29 \pm 3,05$	$11,64 \pm 2,07^*$	$11,29 \pm 2,53^*$

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

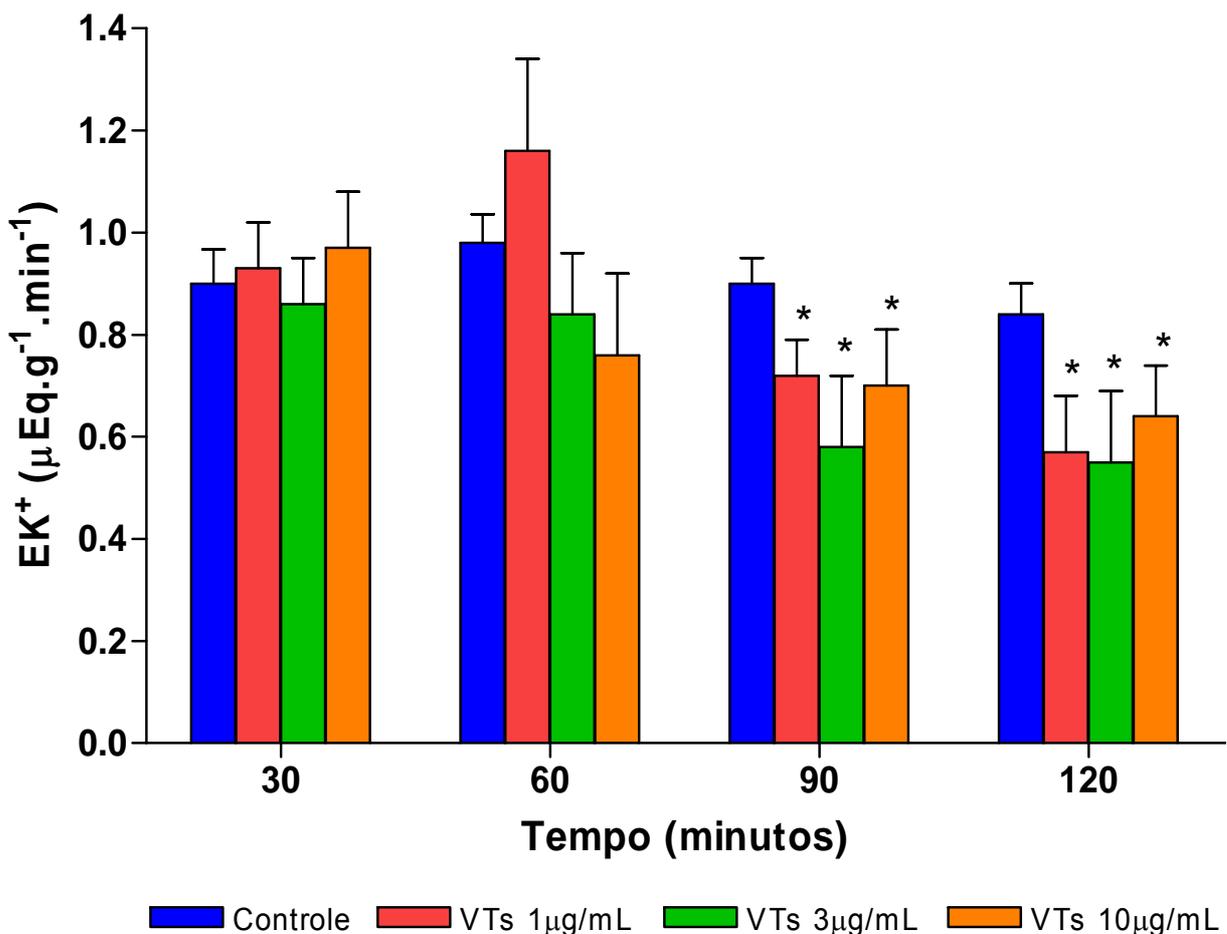


**Figura 32:** Excreção de Sódio ( $\text{ENa}^+$ ) nos grupos controle ( $n = 6$ ) e tratados ( $n = 6$ ) com veneno de *Tityus serrulatus* (VTs) nas concentrações de 1, 3 e 10  $\mu\text{g/mL}$ . Valores comparados ao controle nos mesmos períodos com  $p < 0,05$ .

**Tabela 19:** Excreção de Potássio ( $EK^+$ ) nos grupos controle (n = 6) e tratados (n = 6) com veneno de *Tityus serrulatus* (VTs) nas concentrações de 1, 3 e 10  $\mu\text{g/mL}$ .

Tempo (minutos)	30'	60'	90'	120'
Controle	0,90 $\pm$ 0,07	0,98 $\pm$ 0,06	0,90 $\pm$ 0,05	0,84 $\pm$ 0,06
VTs 1 $\mu\text{g/mL}$	0,93 $\pm$ 0,09	1,16 $\pm$ 0,18	0,72 $\pm$ 0,07 *	0,56 $\pm$ 0,11 *
VTs 3 $\mu\text{g/mL}$	0,86 $\pm$ 0,09	0,84 $\pm$ 0,12	0,58 $\pm$ 0,14 *	0,55 $\pm$ 0,14 *
VTs 10 $\mu\text{g/mL}$	0,97 $\pm$ 0,10	0,76 $\pm$ 0,16	0,70 $\pm$ 0,11 *	0,64 $\pm$ 0,10 *

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

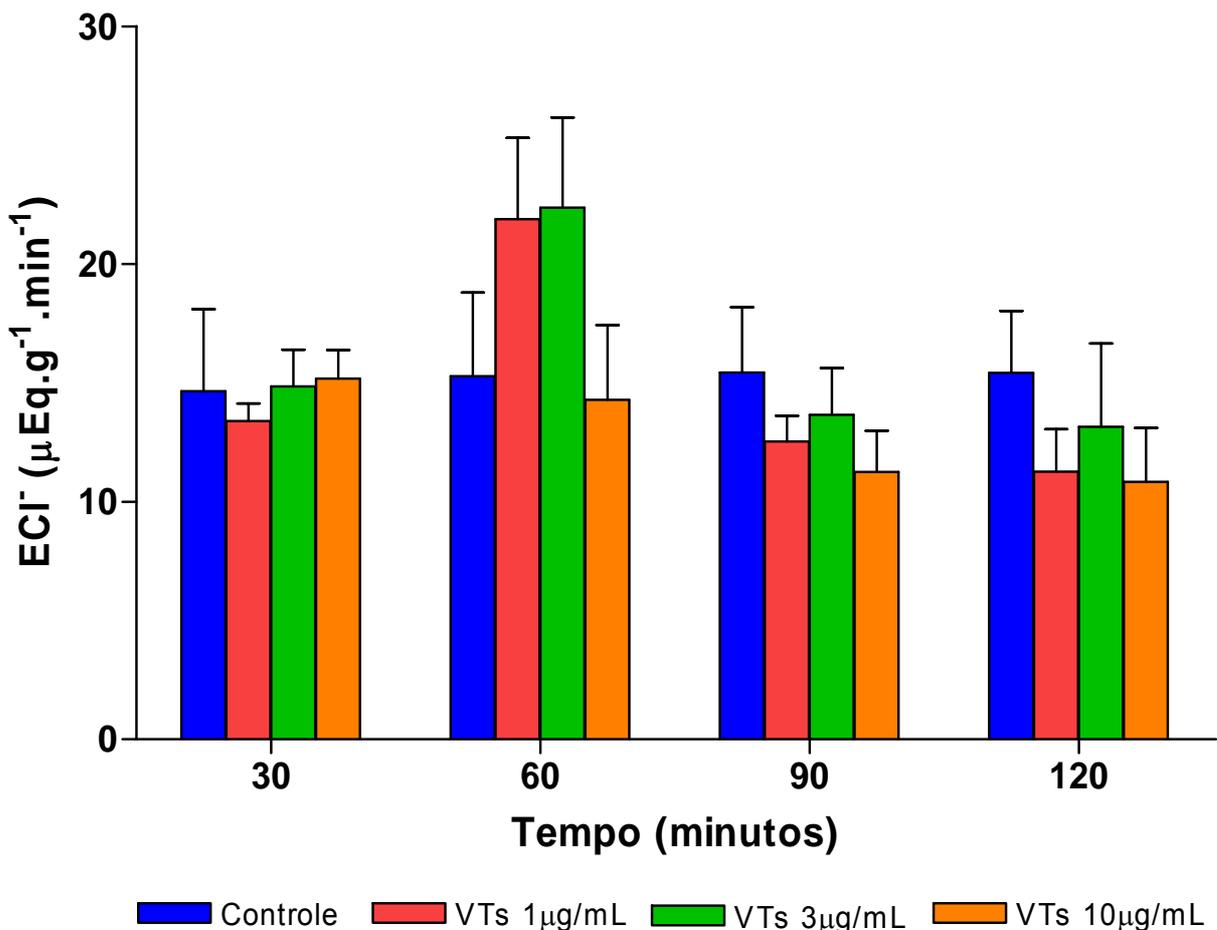


**Figura 33:** Excreção de Potássio ( $EK^+$ ) nos grupos controle (n = 6) e tratados (n = 6) com veneno de *Tityus serrulatus* (VTs) nas concentrações de 1, 3 e 10  $\mu\text{g/mL}$ . Valores comparados ao controle nos mesmos períodos com  $p < 0,05$ .

**Tabela 20:** Excreção de Cloreto ( $\text{ECI}^-$ ) nos grupos controle ( $n = 6$ ) e tratados ( $n = 6$ ) com veneno de *Tityus serrulatus* (VTs) nas concentrações de 1, 3 e 10  $\mu\text{g/mL}$ .

Tempo (minutos)	30'	60'	90'	120'
Controle	14,65 $\pm$ 3,45	15,28 $\pm$ 3,52	15,44 $\pm$ 2,75	15,42 $\pm$ 2,61
VTs 1 $\mu\text{g/mL}$	13,40 $\pm$ 0,73	21,89 $\pm$ 3,41	12,54 $\pm$ 1,08	11,26 $\pm$ 1,80
VTs 3 $\mu\text{g/mL}$	14,85 $\pm$ 1,55	22,37 $\pm$ 3,80	13,65 $\pm$ 1,98	13,15 $\pm$ 3,51
VTs 10 $\mu\text{g/mL}$	15,18 $\pm$ 1,2	14,29 $\pm$ 3,13	11,25 $\pm$ 1,73	10,84 $\pm$ 2,27

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



**Figura 34:** Excreção de Cloreto ( $\text{ECI}^-$ ) nos grupos controle ( $n = 6$ ) e tratados ( $n = 6$ ) com veneno de *Tityus serrulatus* (VTs) nas concentrações de 1, 3 e 10  $\mu\text{g/mL}$ . Valores comparados ao controle nos mesmos períodos com  $p < 0,05$ .

#### 5.4 Leito vascular mesentérico

O veneno de *T. serrulatus* (VTs; 10 $\mu$ g/mL/min) induziu um aumento significativo na pressão de perfusão do leito vascular mesentérico (tabela 21/figura 35).

Os valores da pressão de perfusão variaram de 74.17 $\pm$ 3.42mmHg (pressão basal de estabilização do leito) para 151.80 $\pm$ 17.82mmHg\* (\*p<0,05) após a infusão do veneno. Este aumento corresponde a aproximadamente 60% da contração máxima (205,3  $\pm$  19,25mmHg) do sistema, obtida com a infusão de fenilefrina (5 $\mu$ M/mL/min).

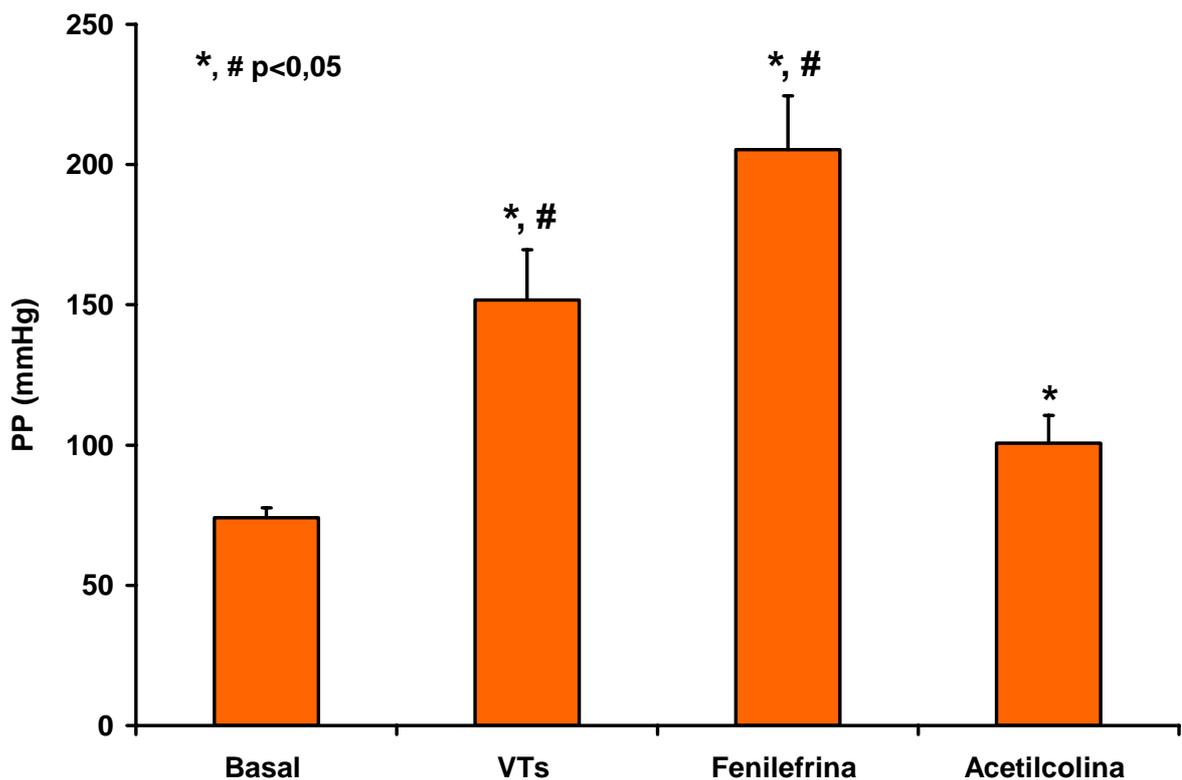
Para demonstrar que o veneno não afetou a integridade do endotélio, utilizou-se a demonstração funcional da resposta relaxante induzida pela injeção de 1 $\mu$ M de acetilcolina aplicada a fase de platô da fase de vasoconstricção promovida pela fenilefrina, onde a pressão foi reduzida a 100,7  $\pm$  9,81mmHg (representando 89  $\pm$  4,6% de diminuição)

O tempo de ocorrência do efeito vasopressor do VTs é semelhante nos sistemas de perfusão de rim isolado e leito vascular mesentérico. Este aumento agudo na pressão de perfusão falha após 5-10 min de infusão (Figura 36).

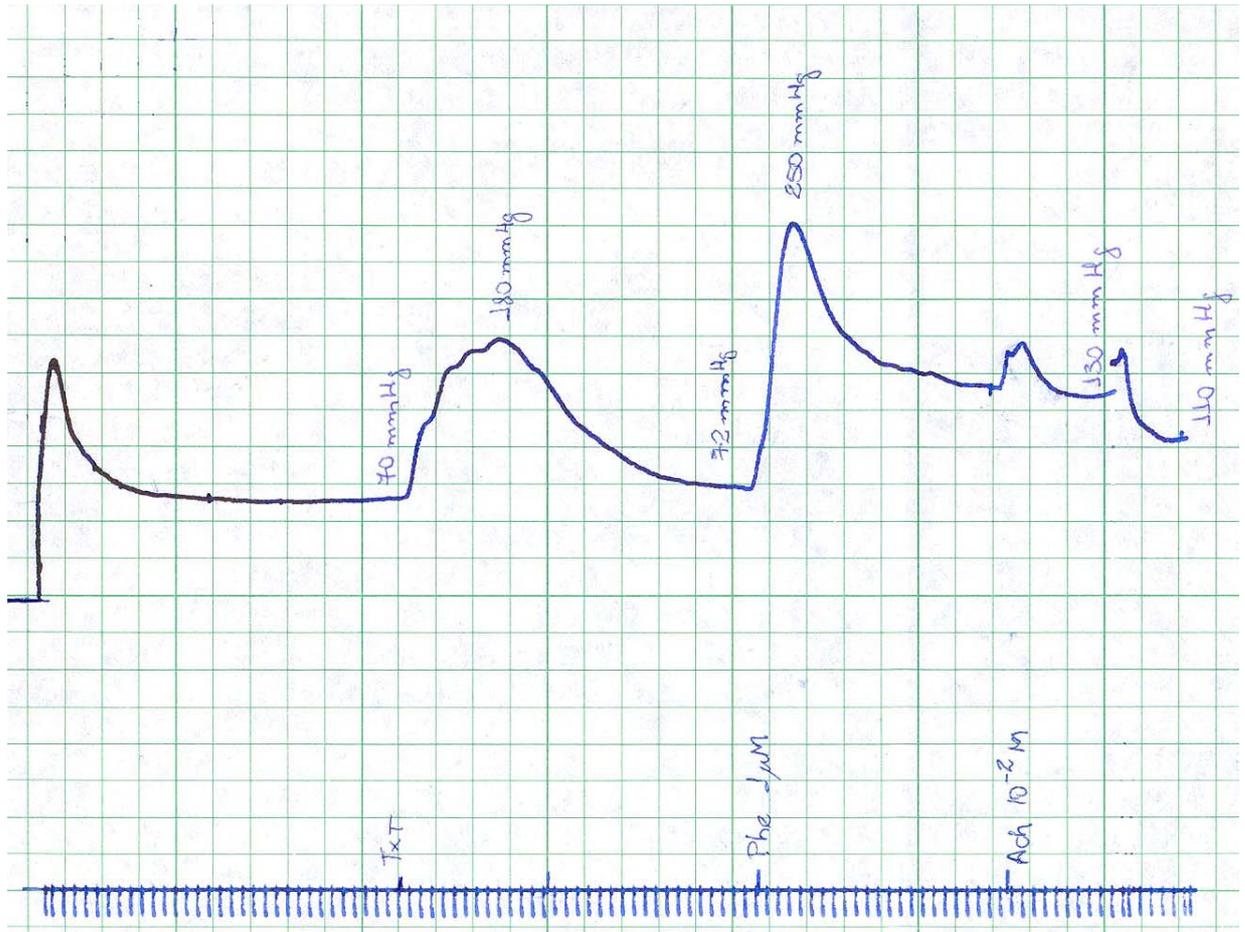
**Tabela 21:** Pressão de leito mesentérico em ratos tratados com veneno de *Tityus serrulatus* (VTs; 10 $\mu$ g/mL/min; n=6); Fenilefrina (5 $\mu$ M/mL/min; n=6) e Acetilcolina (1 $\mu$ M; em bolus; n=6).

	Pressão (mmHg)
Pressão basal (controle)	74,17 $\pm$ 3,42
VTs (10 $\mu$ g/mL/min)	151,8 $\pm$ 17,82 (*,#)
Fenilefrina (5 $\mu$ M)	205,3 $\pm$ 19,25 (*,#)
Acetilcolina (1 $\mu$ M)	100,7 $\pm$ 9,81(*)

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



**Figura 35:** Pressão de leito mesentérico em ratos tratados com veneno de *Tityus serrulatus* (VTs; 10 $\mu$ g/mL/min; n=6); Fenilefrina (5 $\mu$ M/mL/min; n=6) e Acetilcolina (1 $\mu$ M; em bolus; n=6). Resultados expressos em Média  $\pm$  EPM; \* p<0,05 em relação a pressão basal; #p<0,05 em relação a acetilcolina.



**Figura 36:** Traçado da pressão de perfusão de leito vascular mesentérico obtido após infusão de veneno de *Tityus serrulatus* (VTs; 10 μg/mL/min; n=6), Fenilefrina (5 μM/mL/min; n=6) e Acetilcolina (1 μM; em bolus; n=6).

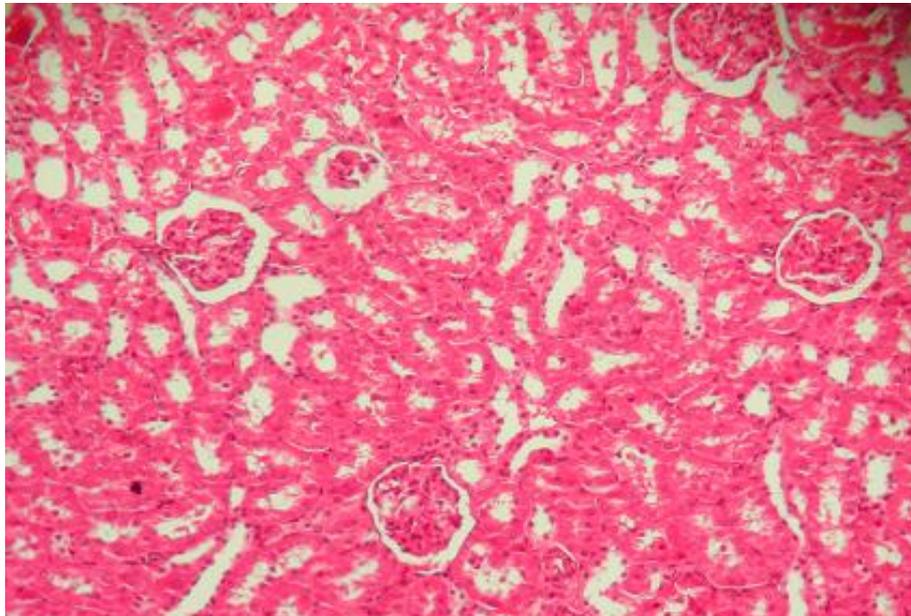
## 5.5 Análise histopatológica

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

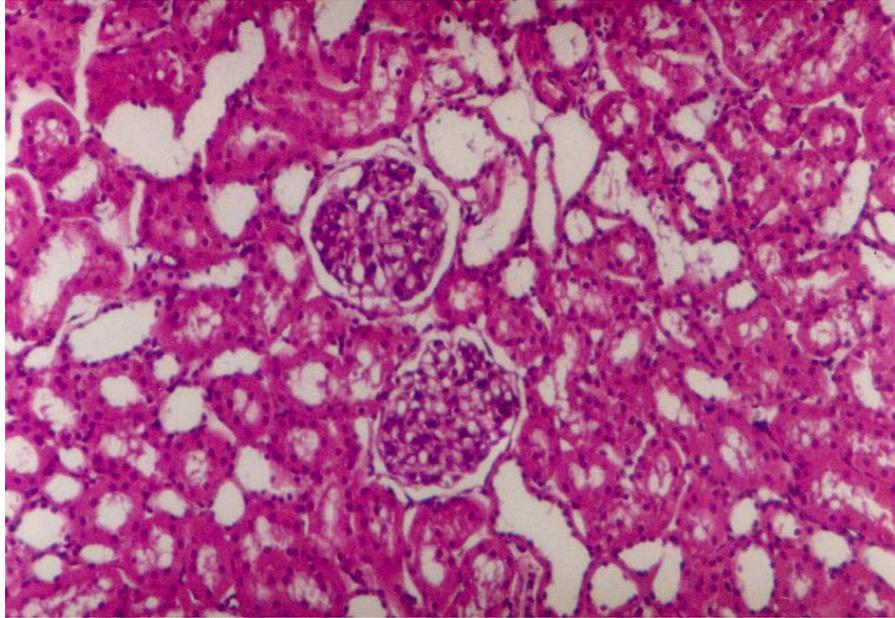
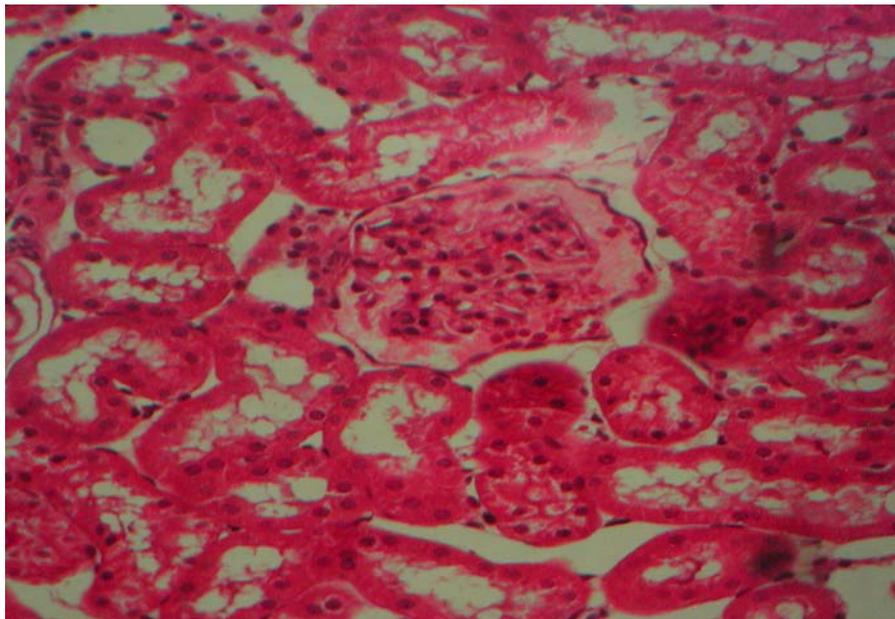
A figura 37 mostra um corte histológico de rim perfundido somente com solução de Krebs-hanseleit mostrando que não há alterações provocadas pelo veículo.

Foi observado que o veneno de *T. serrulatus* propiciou o depósito de material protéico nos túbulos e espaços urinários quando comparado ao controle (rim não perfundido) nas três doses de veneno estudadas 1µg/mL (figura 38), 3µg/mL (figura 39) e 10µg/mL (figura 40).

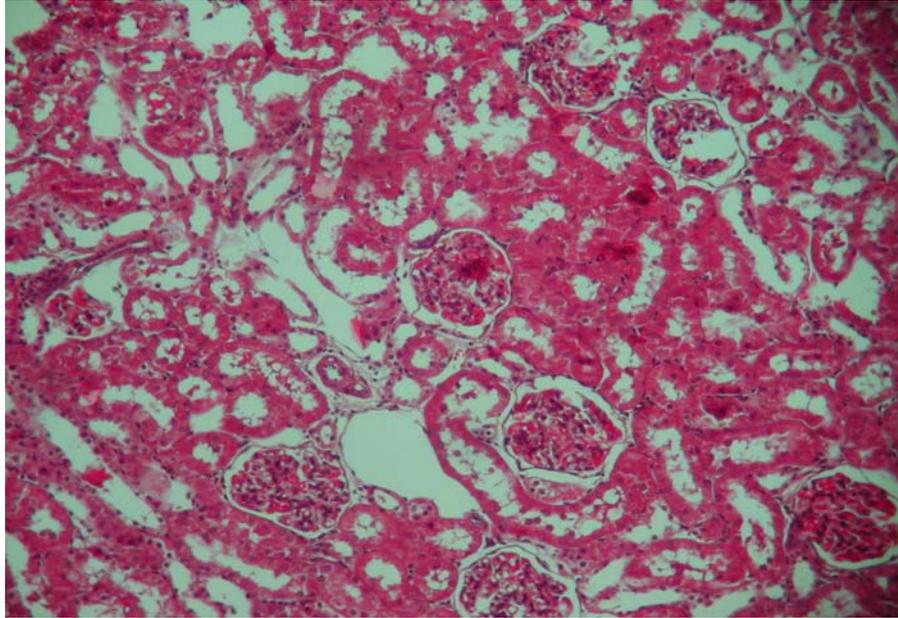
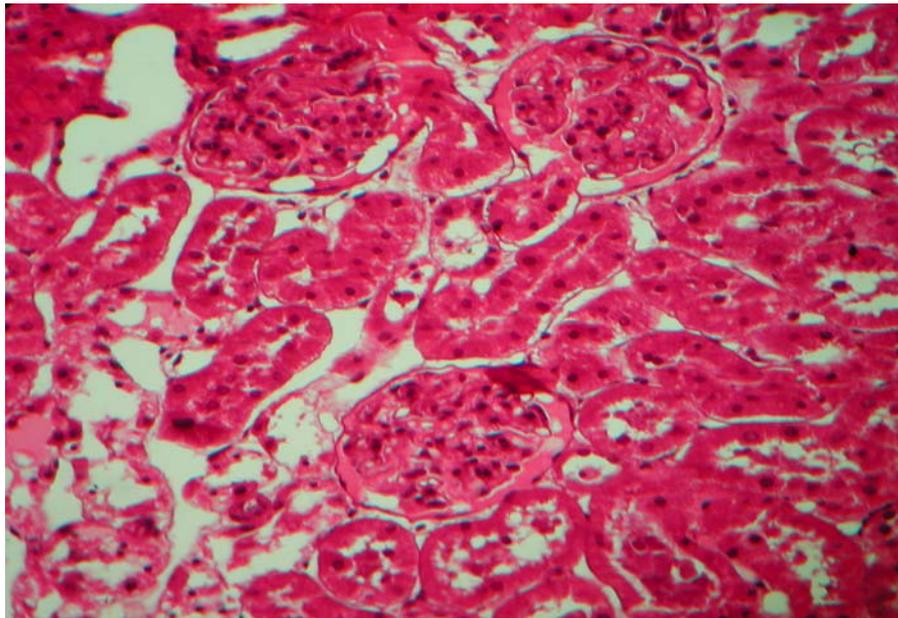
Na figura 41, observa-se evidente depósito de material nos glomérulos e túbulos, causados pela maior dose de veneno (10µg/mL).



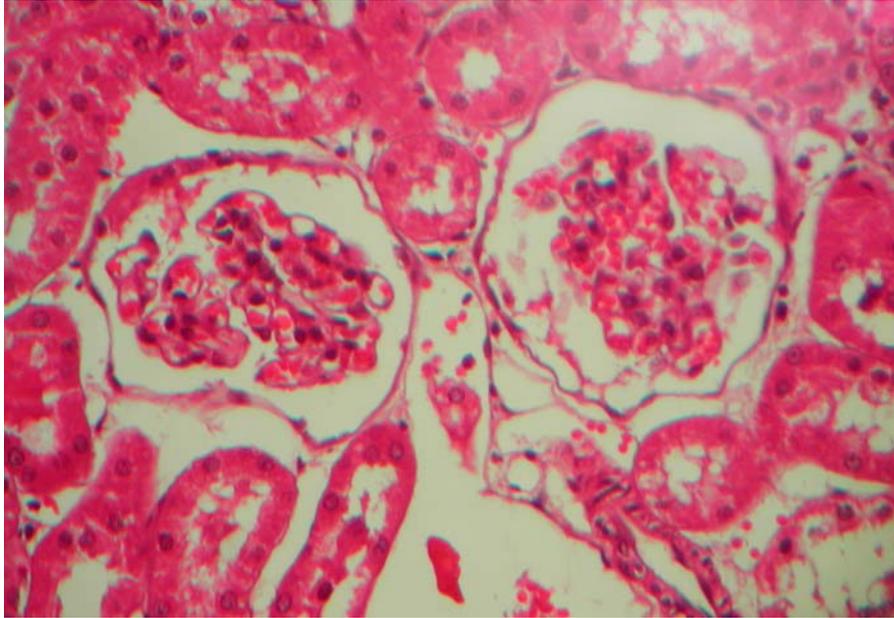
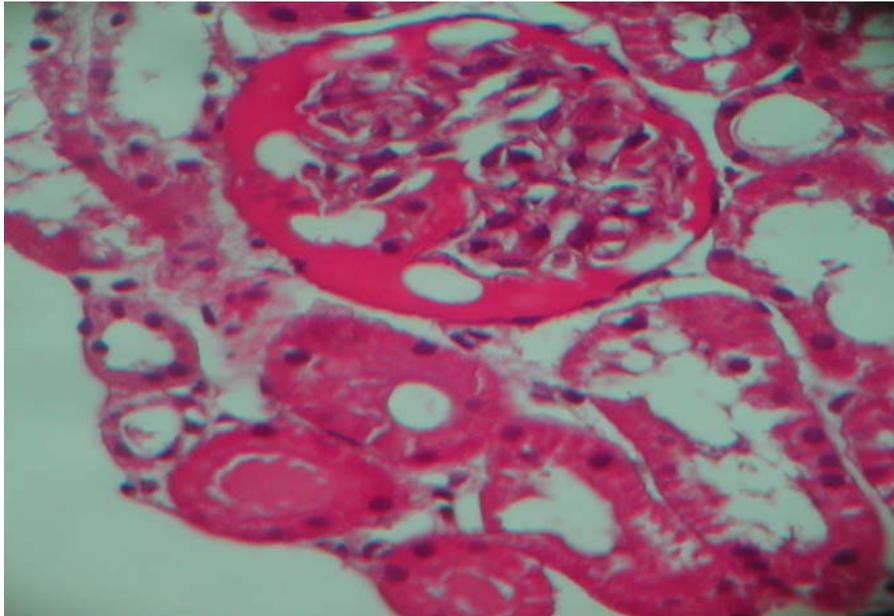
**Figura 37:** Corte histopatológico de rim perfundido somente com solução de Krebs-Hanseleit modificada (aumento 400x; n=6).

**A****B**

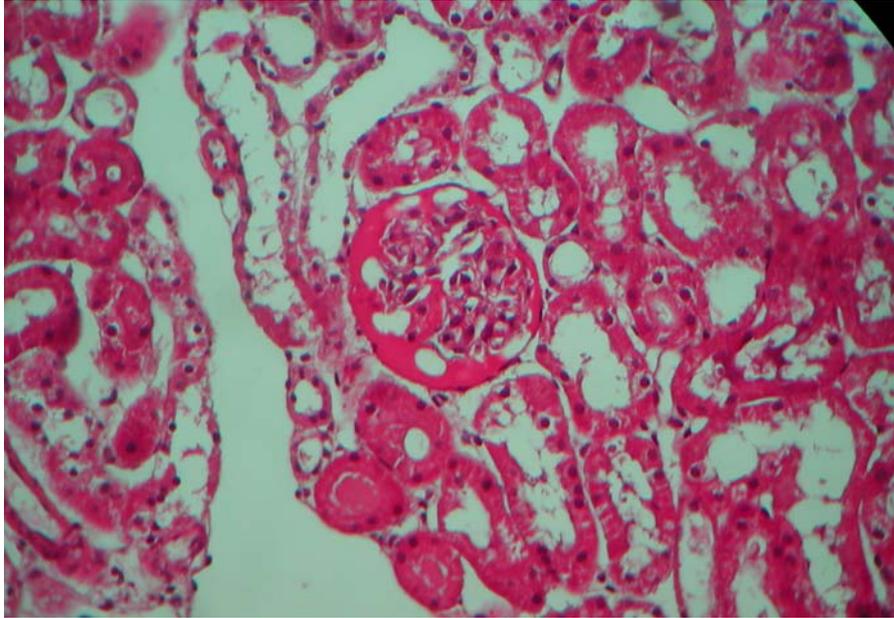
**Figura 38:** Corte histológico de rim perfundido com veneno de *T. serrulatus* na concentração de 1µg/mL. **A:** controle (rim esquerdo não perfundido); **B:** ação do veneno (rim direito perfundido). Moderada quantidade de depósito protéico nos espaços urinários. (Aumento 400x; n=6).

**A****B**

**Figura 39:** Corte histológico de rim perfundido com veneno de *T. serrulatus* na concentração de  $3\mu\text{g}/\text{mL}$ . **A:** controle (rim esquerdo não perfundido); **B:** ação do veneno (rim direito perfundido). Moderada quantidade de depósito protéico nos espaços urinários. (Aumento 100x e 400x; n=6).

**A****B**

**Figura 40:** Corte histológico de rim perfundido com veneno de *T. serrulatus* na concentração de 10 $\mu$ g/mL. **A:** controle (rim esquerdo não perfundido); **B:** ação do veneno (rim direito perfundido). Moderada quantidade de depósito protéico nos espaços urinários. (Aumento 400x; n=6).

**A****B**

**Figura 41:** Corte histológico de rim perfundido com veneno de *T. serrulatus* na concentração de  $10\mu\text{g/mL}$ . **A:** glomérulos e **B:** túbulos renais. Depósito de material protéico nos espaços urinários e luzes tubulares. (Aumento 400x; n=6).

# **DISCUSSÃO**

## 6 DISCUSSÃO

Em regiões climáticas e quentes como o Ceará, por exemplo, e nos meses em que ocorrem 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).

No nordeste, o problema do escorpionismo ainda é pouco conhecido (excetuando-se registros esporádicos das Secretarias de Saúde) sendo a espécie mais relacionada aos acidentes o *Tityus stigmurus* (LIRA-DA-SILVA *et al.*, 2000), entretanto vem aumentando o número de casos de acidentes associados ao *T. serrulatus* principalmente nos estados do Piauí, Ceará Sergipe e Bahia (INSTITUTO BUTANTAN, s/d).

Na Bahia, foram observados 1.208 casos durante o período de 1980 a 1990 enquanto no Ceará foram registrados 1518 acidentes no biênio 2003-2004. Entretanto, o estado que registra o maior número de acidentes escorpiônicos é Minas Gerais, chegando a registrar mais de mil casos/ano (SILVA, 1992; LOURENÇO e CUELLAR, 1995).

A cidade de Fortaleza com uma área de 313,8 km<sup>2</sup> e densidade populacional de 6263,58 habitantes/km<sup>2</sup>, segundo o censo de 2000 (BRASIL, 2000), detém o maior número de casos de acidentes escorpiônicos registrados no estado do Ceará.

O veneno de *Tityus serrulatus* é um complexo composto por proteínas com atividade hialuronidásica, aminoácidos livres e sais. Possui atividade neurotóxica tecidual, devido a ação nos sítios específicos dos canais de sódio pós-ganglionares. Quando as membranas são despolarizadas, ocorre uma liberação de neurotransmissores e descarga autonômica maciça, com efeitos adrenérgicos e colinérgicos, de intensidades variáveis, em diferentes órgãos e tecidos (ANDRADE FILHO *et al.*, 2001).

Freire-Maia e Campos (1988) descreveram diversos efeitos fisiopatológicos no envenenamento escorpiônico, tais como hipertensão arterial (por liberação de catecolaminas); arritmias cardíacas; cardiotoxicidade direta (o veneno levaria a

miocardite tóxica com áreas de necrose, o que levaria ao aumento da demanda de oxigênio); hipotensão arterial (secundária a hipovolemia gerada pelo aumento de vômitos e sudorese excessiva); edema agudo de pulmão; pancreatite aguda (por obstrução dos canalículos); aumento da motilidade intestinal e da agregação plaquetária; redução de fluxo renal, volume urinário e excreção de sódio; hiperglicemia e hipocalcemia; além de infartos cerebrais ocasionados pela vasoconstrição secundária a liberação de catecolaminas.

O veneno de *T. serrulatus* inclui diversos elementos em sua composição. 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. Entretanto, menos de 1% dos peptídeos presentes no veneno escorpiônico, estimados em aproximadamente 100.000, são conhecidos (POSSANI *et al.*, 1999).

Dois tipos de toxinas, isoladas e purificadas, têm sido descritas como responsáveis pela grande maioria dos efeitos: toxina  $\gamma$  (uma proteína tipo  $\beta$  pregueada) e a tityustoxina (TsTX, uma proteína tipo  $\alpha$ ), conforme descrito por Kalapothakis e Chávez-Olórtegui (1997), ambas com especificidade e afinidade para os canais de sódio.

Marangoni e colaboradores (1995) sequenciaram uma toxina do tipo  $\alpha$ , denominada TsTX-V, observando seu efeito na permeabilidade de canais de  $K^+$  de células  $\beta$  de pâncreas de ratos.

Sabe-se que a toxina escorpiônica tem a capacidade de ligar-se a canais de sódio especialmente em espécies de mamíferos (RICCIOPPO NETO, 1983; KIRSCH *et al.*, 1989; CESTELE e CATTERALL, 2000), insetos e crustáceos (ZLOTKIN *et al.*, 1972; ZLOTKIN *et al.*, 1991; KOPEYAN *et al.*, 1993).

A perda da modulação destes canais de sódio no sistema nervoso central pode produzir uma hiper-excitabilidade em alguns neurônios que pode levar a focos epiléticos. Portanto, a alteração na função dos canais iônicos induzida pelo veneno total ou toxinas isoladas, podem ser responsáveis pelos ataques convulsivos observados em envenenamentos severos em crianças e recém-nascidos (SANDOVAL e LEBRUN, 2003).

Kalapothakis e Chávez-Olórtegui (1997), estudando a expressão das frações tóxicas  $\alpha$  e  $\beta$  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- $\alpha$  era mais letal. Estas observações entre outras, poderiam explicar a abundância de nomenclaturas e de perfis de purificação encontrados na literatura.

A injeção de veneno escorpiônico em animais experimentais produz sinais e sintomas similares aqueles observados no envenenamento humano como febre, agitação psico-motora, salivação, lacrimejamento, arritmias cardíaca e respiratória, entre outros (FREIRE-MAIA e CAMPOS, 1989). Alterações séricas como leucocitose, elevações de creatinina quinase (CK), lactato desidrogenase (LDH), aspartato aminotransferase (AST), citocinas (IL-1, IL-6 e TNF) além de proteína-C (SOFER *et al.*, 1996; CORRÊA *et al.*, 1997; MAGALHÃES *et al.*, 1997; PESSINI *et al.*, 2001, PESSINI *et al.*, 2003), também foram relatados.

Os achados laboratoriais de maior importância relatados no momento da admissão de pacientes acometidos de picada escorpiônica foram hiperglicemia (média de 249 mg/dL), leucocitose (média de 22.900 cél/mm<sup>3</sup>), creatinofosfatoquinase total e fração MB elevadas (médias de 108,5 e 11 U/L, respectivamente).

Nossos resultados demonstram hiperglicemia nos animais. Distúrbios na glicemia são comuns e podem ser explicados, em parte, por alterações na secreção do hormônio pancreático (CLEMENTE *et al.*, 1991).

A hiperglicemia tem sido descrita por alguns autores como decorrente de uma diminuição da secreção de insulina pelo pâncreas ou lesão pancreática endócrina severa (D'SUZE *et al.*, 2003). Já a hipertrofia das ilhotas pancreáticas induzida por doses sub-letais de veneno pode resultar em aumento da liberação de insulina, gerando a hipoglicemia (NOVAES *et al.*, 1990).

A hiperglicemia também pode ser gerada por estimulação de nervos terminais no fígado aumentando a produção de glicose a partir do glicogênio hepático. Este

efeito é mediado por receptores  $\alpha$ -adrenérgicos (NAOMI, 1984; MURTHY *et al.*, 1987).

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, 2003), mostrando alterações nos parâmetros de função renal. Cupo e Hering, em 2002, relataram o aumento do número de leucócitos bem como hipocalcemia em pacientes. Esta hipocalcemia pode ser devida ao vômito intenso (que geralmente acompanha os acidentes graves) e desenvolvimento de alcalose por perda de ácido. Nestes casos há a entrada de potássio para as células em troca de íons hidrogênio, na tentativa de corrigir o pH. Isso, conseqüentemente gera uma hipocalcemia. Entretanto, em ratos, os resultados obtidos demonstraram uma hipocalcemia transitória seguida de aumento significativo em 96 horas após a administração do veneno, sugerindo mais fortemente um dano 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, 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; ISMAIL *et al.*, 1978; ISMAIL *et al.*, 1980; REVELO *et al.*, 1996).

A dose estudada na toxicidade in vivo (300 $\mu$ g) está bem abaixo da DL<sub>50</sub> descrita na literatura, porém já demonstra alteração nos parâmetros renais (uréia, creatinina e potássio), revelando um certo grau de dano renal.

Estudos anteriores 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. Também foram observados altos níveis de creatina quinase, lactato desidrogenase e aspartato aminotransferase, confirmando as lesões tissulares (PESSINI *et al.*, 2003).

A cinética de absorção, distribuição e excreção do veneno em pacientes picados por escorpião ainda não é conhecida, porém, estudos demonstraram diferenças na farmacocinética do veneno de acordo com a idade do animal (NUNAN *et al.*, 2003; NUNAN *et al.*, 2004). No estudo de Cupo e Hering (2002), camundongos que receberam veneno bruto de *T. serrulatus* por via subcutânea, apresentaram altas concentrações do veneno nos rins e fígado 15 minutos após a injeção e, em 30 minutos, o veneno encontrava-se amplamente distribuído pela circulação, pulmões, coração e baço. Após duas horas a concentração de veneno circulante caiu significativamente, não sendo mais detectada oito horas após o acidente (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 OVSYSCHER, 1987).

O aumento transitório na PP e RVR induzido pelo veneno de *Tityus serrulatus* pode ser devido a ativação renal de  $\alpha$ 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  $\alpha$ -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  $\alpha$ -adrenoreceptores que aponta o envolvimento de ativação de canais de  $\text{Na}^+$  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" (30-40 resíduos de aminoácidos) apresentam especificidade para diferentes tipos de canais de  $K^+$  (TYTGAT *et al.*, 1999).

Por outro lado, as neurotoxinas do escorpião *Tityus serrulatus* agiram em terminais nervosos pós-ganglionares, interagindo com canais de sódio e levando a liberação de mediadores químicos como acetilcolina e catecolaminas (FREIRE-MAIA e CAMPOS, 1989).

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 ou pode representar inativação de canal iônico (i.e., canal de  $Na^+$  neuronal voltagem-dependente) ou o fenômeno de escape vascular adrenérgica (FOLKOW *et al.*, 1964). Na hipótese anterior consideramos que o veneno pode agir estimulando neurônios adrenérgicos e, conseqüentemente, produzem vasoconstrição.

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 vasoconstrição diminui espontaneamente por um mecanismo de controle miogênico do fluxo, isto é, escape vascular (GREENWAY *et al.*, 1976).

Lombert e Lazdunski (1984) caracterizaram um sítio receptor para toxina  $\gamma$  de VTs nos canais de sódio do sarcolema cardíaco. Em adição, Yatani *et al.* (1988) mostraram que a ação da toxina neste canal lentifica a transição entre os estados aberto e fechado do canal. A diminuição da inativação canal de sódio poderia levar ao aumento do aporte de cálcio (através da bomba  $Na^+/Ca^{2+}$ ) e ao aumento da contratilidade cardíaca (TEIXEIRA Jr, 2001).

A avaliação histopatológica revelou depósito de material protéico nos túbulos renais e espaços urinários de rins perfundidos com VTs. 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 permanente do RFG e FU.

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  $\text{Na}^+$  e  $\text{Ca}^{2+}$ , que conduziriam ao aumento na pressão de perfusão secundário a liberação de noradrenalina (MOUSLI *et al.*, 1990; TOSSI *et al.*, 2000).

Corrêa e colaboradores (1997) também identificaram alterações histopatológicas, causadas pelo VTs, em diferentes órgãos como fígado (hepatócitos apresentando vacuolização, congestão, hemólise e obstrução da luz dos vasos), coração (congestão venosa, necrose e hipertrofia de fibras musculares, vacuolização), pulmões (edema hemorrágico) e rins (congestão e pequenas áreas hemorrágicas).

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

Entretanto, Freire-Maia e Matos (1993) demonstraram que o pré-tratamento de animais com BN-52021, um antagonista do PAF, reverte o edema pulmonar, mas não o efeito hipertensivo do veneno de *T. serrulatus*. Isto demonstra que a liberação

deste mediador não seria o principal responsável pelo aumento pressórico induzido pelo veneno.

A adição de antagonistas de serotonina, bradicinina e angiotensina II não conseguiu prevenir a contração muscular uterina (vasos sanguíneos miométricos com esparsa inervação colinérgica; GARFIELD, 1986) induzida pela toxina do veneno de *T. serrulatus*. Contudo, a tetrodotoxina, um bloqueador de canais de sódio, aboliu completamente esta contração (MENDONÇA *et al.*, 1995).

A participação de outras substâncias pode responder simultaneamente pelos efeitos observados e serão objetos de estudos adicionais para investigar a natureza e mecanismo da vasoconstrição induzida pelo veneno de *Tityus serrulatus*.

## **CONSIDERAÇÕES FINAIS**

## 7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

- O ensaio de toxicidade “in vivo” utilizando o veneno de *Tityus serrulatus* demonstrou alterações nos parâmetros de função renal uréia, creatinina e potássio, bem como induziu hiperglicemia em ratos.
- O veneno de *Tityus serrulatus*, nas concentrações de 1µg/mL, 3µg/mL e 10µg/mL, induziu alterações hemodinâmicas renais com elevação transitória da pressão de perfusão e resistência vascular renal, de maneira não dose-dependente.
- O fluxo urinário e o ritmo de filtração glomerular demonstraram responder de forma heterogênea às concentrações de VTs mas com tendência a diminuição ao final do experimento.
- O transporte tubular, transporte proximal e excreção de eletrólitos não apresentou uniformidade nos resultados em relação às concentrações estudadas, provavelmente por ação e/ou saturação dos canais iônicos.
- Os resultados histopatológicos renais demonstraram depósito de material protéico nos espaços urinários e túbulos renais de maneira não dose-dependente. Isto pode ser decorrente do aumento pressórico, levando ao extravasamento de material protéico.
- O veneno promoveu aumento significativo da pressão de perfusão do leito vascular mesentérico demonstrando uma ação vasoconstrictora. Entretanto, este efeito não se mantém, provavelmente pelo fenômeno de escape vascular.

## **CONCLUSÕES**

## 8 CONCLUSÕES

Em conclusão, pode-se observar que o veneno de *T. serrulatus* induziu alterações hemodinâmicas renais, aumentando a resistência vascular e pressão de perfusão, provavelmente por vasoconstrição direta das arteríolas renais, forçando a passagem de proteínas aos espaços urinários, reduzindo o ritmo de filtração glomerular e, por conseguinte, diminuindo o fluxo urinário.

Por fim, o trabalho aponta perspectivas no sentido de elucidar os mecanismos envolvidos na promoção destes efeitos bem como uma possível utilização do veneno de *Tityus serrulatus* como ferramenta farmacológica.

## **REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

## 9 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 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.
- 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.
- 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.
- BLONDEL, J. (1976). Stratégies démographiques et successions écologiques. **Bull. Soc. Zool. France** 101:695-718.
- 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.
- BRASIL. IBGE, Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística/Ceará (2000). **Dados populacionais da cidade de Fortaleza, Ceará**. Rio de Janeiro.
- 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.
- 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.
- CATTERALL, W. A. (1986) Molecular properties of voltage-sensitive sodium channels. **Annu. Rev. Biochem.** 55, 953-985.
- CESTELE, S.; Catterall, W. A. (2000). Molecular mechanisms of neurotoxin action on voltage-gated sodium channels. **Biochimie** 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.
- CLEMENTE, G. T.; Rossoni, R. B.; Safe, J. M. M.; Freire-Maia, L. (1999). Effects of crude venom, tityustoxin and toxin Ts- $\delta$  from *Tityus serrulatus* scorpion on secretion and structure of the rat submandibular gland. **Arch. Oral. Biol.** 44:103-110.
- 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.
- 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.
- 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.; Sevcik, 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.
- 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.

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

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.

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

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](http://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.

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.

FONTELES, M.C. (1980). Efeitos do ácido 2-tetradecilglicídico 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.; Campos, J. A. (1988). Pathophysiology and treatment of scorpion poisoning. Proceeding of the 9<sup>th</sup> 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 9<sup>th</sup> World Congress on Animal, Plant and Microbial Toxins. Stillwater. Oklahoma. **Pergamon Press**. Oxford. pp: 139-159.

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

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. **Toxicol** 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.

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

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.

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

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

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. and 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. **Toxicol** 39(12):1841-1846.

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.

ISMAIL, M.; Kertesz, G.; Osman O. H.; Sidra, M. S. (1974). Distribution of <sup>125</sup>I-labelled scorpion (*Leiurus quinquestriatus*) venom in rats tissues. **Toxicol** 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 <sup>125</sup>I-labelled venom-from the scorpion *Androctonus amorexi*. **Toxicon** 18:301-308.

ISMAIL, M.; Abd-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.

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

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.

KOPEYAN, C.; Mansuelle, P.; Martín-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.

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

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<sup>+</sup> 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.

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: Schvartsman, S. **Plantas venenosas e animais peçonhentos**. Sarvier: São Paulo, p. 211-227.

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

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.; Bucarechi, 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<sup>+</sup> 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.

MATTHIENSEN, F.A. (1971). The breeding of *T. serrulatus* Lutz & 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.

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.

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.

MITRE, Maya. (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](http://www2.uol.com.br/cienciahoje/chmais/pass/ch171/emdia.pdf)>. Acesso em: abril 2004.

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.

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.

NOVAES, G.; Chetto-de-Queiroz, A.; Carvalho-Cardoso, C.; Burlachani-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.

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.

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.

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.; Becerril, B.; Delepierre, M.; Tytgat, J. (1999). Scorpion toxins specific for Na<sup>+</sup>-channels. **Eur J Biochem.** 264(2): 287-300.

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.; Bambilra, 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.

ROBERT, A. B. (1991). Envenomation by the scorpion *Centruroides exilicauda sculpturatus*. Severe and unusual manifestations. **Pediatrics** 87: 930.

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.

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

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.

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.

STRASSER, R. H., Ihl-Val, R., Marquetant, R. (1992). Molecular Review: Molecular biology of adrenergic receptors. **J. of Hypert.**, 10:501-506.

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.

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.

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,  $\alpha$ -helical antimicrobial peptides. **Biopolymers** 55, 4-30.

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-Eauclaire, 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

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

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.

VITAL BRAZIL. (1918). Soro antiescorpionico. **Mem. Inst. Butantan**, nº 1, pp. 47-50.

WALSER, M.; Davidson, D.G.; Orloff, J. (1955). The renal clearance of alkali-stable inulin. **J. Clin. Invest.**, 34:1520-1523.

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.

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.

**ANEXOS**

## ANEXO A

**Prevenção de acidentes contra aranhas e escorpiões** (Fundação Nacional de Saúde, 2001)

- Manter jardins e quintais limpos;
- Evitar o acúmulo de entulhos, folhas secas, lixo doméstico e material de construção nas proximidades das casas;
- Evitar folhagens densas (plantas ornamentais, trepadeiras, arbusto, bananeiras e outras) junto a paredes e muros das casas; manter a grama sempre bem aparada;
- Limpar periodicamente os terrenos baldios vizinhos obedecendo uma faixa de pelo menos 1 a 2 metros da moradia;
- Vistoriar roupas e calçados antes de vesti-los;
- Não colocar as mãos desprotegidas em buracos, sob pedras e troncos podres.
- O uso de calçados e luvas ajuda a evitar acidentes;
- Vedar as soleiras das portas e janelas ao escurecer;
- Vedar frestas e buracos em paredes e assoalho; consertar rodapés desprezados; colocar telas nas janelas e saquinhos de areia nas soleiras das portas,
- Usar telas em ralos, pias e tanques;
- Afastar as camas das paredes; evitar o contato de roupas de cama e mosquitoireiro com o chão;
- Combater a proliferação de insetos, principalmente baratas;
- Acondicionar o lixo domiciliar em sacos plásticos ou em recipientes que possam ser mantidos fechados;
- Preservar os inimigos naturais de escorpiões.

O soro é distribuído gratuitamente pelo Ministério da Saúde a Hospitais e Postos de Atendimento que atendem picados por animais peçonhentos em todo país.

O Centro de Atendimento a Intoxicados (CEATOX), no Instituto Dr. José Frota, em Fortaleza, realiza plantão 24 horas, incluindo fins-de-semana e feriados, para o atendimento de pacientes acidentados.





## Renal effects and vascular reactivity induced by *Tityus serrulatus* venom

Renata de Sousa Alves<sup>a</sup>, Nilberto Robson Falcão do Nascimento<sup>b</sup>,  
Paulo Sérgio Ferreira Barbosa<sup>a</sup>, Marta Regina Kerntopf<sup>b</sup>,  
Lucília Maria Abreu Lessa<sup>b</sup>, Clauber Mota de Sousa<sup>b</sup>,  
René Duarte Martins<sup>a</sup>, Daniel Freire Sousa<sup>a</sup>,  
Maria Goretti Rodrigues de Queiroz<sup>c</sup>,  
Marcos Hikari Toyama<sup>d</sup>, Manassés Claudino Fonteles<sup>b</sup>,  
Alice Maria Costa Martins<sup>c</sup>, Helena Serra Azul Monteiro<sup>a,\*</sup>

<sup>a</sup>Department of Physiology and Pharmacology, Institute of Biomedicine and Clinical Research Unit,  
Federal University of Ceara, Fortaleza, Ceara 60430-270, Brazil

<sup>b</sup>Superior Institute of Biomedical Sciences, Ceara State University, Fortaleza, Ceara, Brazil

<sup>c</sup>Department of Clinical and Toxicological Analysis, Federal University of Ceara, Fortaleza, Ceara, Brazil

<sup>d</sup>Paulista State University (UNESP), Campus do Litoral Paulista, Unidade São Vicente, São Paulo, Brazil

Received 24 November 2004; accepted 8 April 2005

---

### Abstract

*Tityus serrulatus*, popularly known as yellow scorpion, is one of the most studied scorpion species in South America and its venom has supplied some highly active molecules. The effects of *T. serrulatus* venom upon the renal physiology in human showed increased renal parameters, urea and creatinine. However, in perfused rat kidney the effects were not tested until now. Isolated kidneys from Wistar rats, weighing 240–280 g, were perfused with Krebs–Henseleit solution containing 6% (g weight) of previously dialysed bovine serum albumin. The effects of *T. serrulatus* venom were studied on the perfusion pressure (PP), renal vascular resistance (RVR), urinary flow (UF), glomerular filtration rate (GFR), sodium tubular transport (%TNa<sup>+</sup>), potassium tubular transport (%TK<sup>+</sup>) and chloride tubular transport (%TCl<sup>-</sup>). *Tityus serrulatus* venom (TsV; 10 µg/mL) was added to the system 30 min after the beginning of each experiment ( $n=6$ ). This 30 min period was used as an internal control. The mesenteric bed was perfused with Krebs solution kept warm at 37 °C by a constant flow (4 mL/min), while the variable perfusion pressure was measured by means of a pressure transducer. The direct vascular effects of TsV (10 µg/mL/min;  $n=6$ ), infused at a constant rate (0.1 mL/min), were examined and compared to the infusion of the vehicle alone at the same rate. TsV increased PP ( $PP_{30'}=127.8\pm 0.69$  vs  $PP_{60'}=154.2\pm 14$  mmHg\*,  $*p<0.05$ ) and RVR ( $RVR_{30'}=6.29\pm 0.25$  vs  $RVR_{60'}=8.03\pm 0.82$  mmHg/mL g<sup>-1</sup> min<sup>-1</sup>\*,  $*p<0.05$ ), decreased GFR ( $GFR_{30'}=0.58\pm 0.02$  vs  $GFR_{60'}=0.46\pm 0.01$  mL g<sup>-1</sup> min<sup>-1</sup>\*,  $*p<0.05$ ) and UF ( $UF_{30'}=0.135\pm 0.001$  vs  $UF_{60'}=0.114\pm 0.003$  mL g<sup>-1</sup> min<sup>-1</sup>\*,  $*p<0.05$ ). Tubular transport was not affected during the whole experimental period (120 min). On the other hand, the infusion of TsV

---

\* Corresponding author. Address: Departamento de Fisiologia e Farmacologia, Unidade de Pesquisas Clínicas/UFC-UECE, Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Ceará, CP 3229 Fortaleza, Ceara, Brasil. Tel.: +55 85 223 6982; fax: +55 85 281 5212.

E-mail addresses: martinsalice@hotmail.com (A.M.C. Martins), serrazul@baydenet.com.br (H.S.A. Monteiro).

(10  $\mu\text{g/mL/min}$ ) increased the basal perfusion pressure of isolated arteriolar mesenteric bed (basal pressure:  $74.17 \pm 3.42$  vs TsV  $151.8 \pm 17.82$  mmHg\*, \* $p < 0.05$ ). TsV affects renal haemodynamics probably by a direct vasoconstrictor action leading to decreased renal flow.

© 2005 Elsevier Ltd. All rights reserved.

*Keywords:* *Tityus serrulatus*; Perfused kidney; Mesenteric blood vessels

## 1. Introduction

Scorpion stings are a major public health problem in Brazil and the world (Cupo and Hering, 2002). The envenomation produced by scorpion stings are frequent in tropical and subtropical countries and may be fatal, particularly in children, and the main species involved is *Tityus serrulatus* (Lourenço et al., 1996; Freire-Maia and Campos, 1989; Freire-Maia et al., 1994; Lira-Da-Silva et al., 2000; Fukuhara et al., 2004).

*Tityus serrulatus*, the Brazilian yellow scorpion, is one of the most studied scorpion species in South America and its venom has supplied some highly active molecules (Pimenta et al., 2003). *Tityus serrulatus* is the most dangerous scorpion in Brazil due to its widespread distribution in populous urban centers and to the high toxicity of its venom (Freire-Maia et al., 1994). The manifestations of *T. serrulatus* envenomation include pain at the site of the sting or epigastric pain, hypersalivation, vomiting, diarrhea, sweating, psychomotor agitation and different cardiorespiratory symptoms (Freire-Maia and Campos, 1989; Freire-Maia et al., 1994; Troncon et al., 2000; Teixeira et al., 2001).

The symptoms and signs observed in the scorpion envenomation have been attributed to venom activation of sodium channels releasing neurotransmitters from autonomic nerve endings (Fukuhara et al., 2004). Scorpion stings also produce tissue injury that may induce a systemic inflammatory response with subsequent release of cytokines and also stimulates the release of catecholamines, bradykinin and prostaglandins (D'Suze et al., 2003).

Various polypeptide neurotoxins, mostly affecting sodium and potassium ion channels, have been purified from venom of scorpions of the genus *Tityus* (De Lima and Martin-Eauclair, 1995; Becerril et al., 1997) and all known  $\text{Na}^+$ -channel specific toxins are composed of 60–76 amino acid residues and stabilized by four disulfide bridges, whereas those of the  $\text{K}^+$  channels are about 31–39 amino acid residues long and stabilized by either three or four disulfide bonds (Possani et al., 1999).

The most common complications in cases of severe scorpion envenomation are alterations in the arterial pressure, tachycardia, tachypnea, hypothermia, high white blood count, respiratory distress (Mota et al., 1994; D'Suze et al., 1995), pancreatitis, myocardial damage, respiratory distress, coagulation disorders and multiple organ failure (Devi et al., 1970; Reddy et al., 1972; Robert, 1991; Sofer et al., 1996; D'Suze et al., 2003). Besides this,

congestion and hemorrhage were demonstrated in kidneys of rats treated with sublethal doses of *T. serrulatus* venom (Corrêa et al., 1997). Whether these alterations were due to a direct effect on kidney function or secondary to release of neurotransmitters at the synaptic level or to an acute-phase inflammatory response remains to be investigated.

The aim of the present work was to study the potential functional alterations produced by *T. serrulatus* venom in the isolated rat kidney and its effect on vascular reactivity in the isolated perfused rat arteriolar mesenteric bed.

## 2. Materials and methods

### 2.1. Scorpion venom and drugs

*Tityus serrulatus* venom (TsV) was kindly donated by Dr Marcos H. Toyama, Paulista State University (UNESP). Phenylephrine and acetylcholine were purchased from Sigma (St Louis, MO) and were diluted in the perfusion solution freshly in the day of experiments.

### 2.2. Kidney perfusion

Adult male wistar rats (260–320 g) were fasted for 24 h with free access to water. The rats were anesthetized with sodium pentobarbitone (50 mg/kg, i.p) and after careful dissection of the right kidney; the right renal artery was cannulated via the mesenteric artery without interrupting the blood flow as described by Bowman (1970) and modified by Fonteles et al. (1983). The perfusate consisted of a modified Krebs–Henseleit solution (MKHS) of the following composition (in mM): 114.00 NaCl, 4.96 KCl, 1.24  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 0.5  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , 2.10  $\text{CaCl}_2$  and 24.99  $\text{NaHCO}_3$ . Six grams of bovine serum albumin (BSA) were added to 100 mL of MKHS, and dialyzed for 48 h at 4 °C against 10 volumes of MKHS. Immediately before the beginning of each perfusion protocol, 100 mg of urea, 50 mg of inulin and 50 mg of glucose were added to every 100 mL of perfusate. The pH was adjusted to 7.4. In each experiment, 100 mL of MKHS were recirculated for 120 min. A period of 20 min was allowed for blood washout. The pressure perfusion (PP) was measured at the tip of the stainless steel cannula in the renal artery and was kept at 120–140 mmHg during the first 30 min by adjusting the flow rate of the peristaltic pump. Thereafter, the pressure varied according to the substances tested.

Samples of urine and perfusate were collected at 10 min intervals for analysis of the sodium and potassium level by flame photometry; inulin, as described by Walser et al. (1955) and modified by Fonteles et al. (1983); and osmolality, which was measured in vapor pressure osmometer (Wescor 5100C, USA). TsV (10  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) was added to the system 30 min after the beginning of each perfusion. The perfusion pressure (PP), renal vascular resistance (RVR), urinary flow (UF), glomerular filtration rate (GFR), the percentage of sodium (% $\text{TNa}^+$ ), potassium (% $\text{TK}^+$ ) and chloride (%  $\text{Cl}^-$ ) tubular transport were determined. The results were compared to the internal control group, at 30 min early in each experiment ( $n=6$ ).

### 2.3. Isolated perfused arteriolar mesenteric bed

The perfusion was done following the descriptions of McGregor (1965). Briefly, Wistar rats, weighing 280–350 g were anesthetized with sodium pentobarbitone (50 mg/kg, body weight). After opening the abdomen, pancreaticoduodenal, ileum-colic and colic branches of the superior mesenteric artery were tied. Then, the superior mesenteric artery was cleaned of surrounding tissue and cannulated by a polyethylene tube (PE20). The intestine was separated from the mesenteric bed by cutting close to the intestinal border of mesentery. The mesenteric bed was perfused with Krebs solution containing: 114.0 mM of NaCl; 4.96 mM of KCl; 1.24 mM of  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ; 0.5 mM of  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ; 24.99 mM of  $\text{NaHCO}_3$ ; 2.10 mM of  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ; and 3.60 mM of glucose. The perfusion solution was kept warm at 37 °C and the mesenteric bed was perfused by a constant flow (4 mL/min), while the variable perfusion pressure was measured by means of a pressure transducer (Statham P23, Gould, Oxnard, CA, USA) connected to arm side of the system. The variations in perfusion pressure were continuously recorded on a four-channel physiograph (Narco BioSystems, Houston, TX, USA). In this set up, the direct vascular effects of TsV (10  $\mu\text{g}/\text{mL}/\text{min}$ ;  $n=6$ ), infused for 10 min at a constant rate (0.1 mL/min), were examined and compared to the infusion of the vehicle alone at the same rate. The effect of TsV on perfusion pressure was further compared with the pressor effect attained with 1  $\mu\text{M}/\text{mL}/\text{min}$  phenylephrine infusion. Additionally, 1  $\mu\text{M}$  acetylcholine was injected in bolus (in the plateau-phase of phenylephrine-induced contraction) to confirm endothelium functional integrity.

### 2.4. Statistical analysis

Results are shown as mean  $\pm$  SEM of six experiments for each group. Differences between groups were compared by using Student's *t*-test (non-parametric test) or analysis of variance (ANOVA) followed by Bonferroni test with significance set at 5%.

## 3. Results

### 3.1. Renal Effects of *Tityus serrulatus* venom

The administration *Tityus serrulatus* venom (10  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) caused a significant increase in perfusion pressure (PP) and in renal vascular resistance (RVR) at 60 min. The perfusion pressure was  $127.8 \pm 0.69$  mmHg in the control period and  $154.2 \pm 14$  mmHg after 60 min of perfusion ( $p < 0.05$ ;  $n=6$ ).

The renal vascular resistance increased from  $6.29 \pm 0.25$  to  $8.03 \pm 0.82$  mmHg/ $\text{mL g}^{-1} \text{min}^{-1}$  in the same period ( $p < 0.05$ ;  $n=6$ ) as described in Fig. 1. The urinary flow (UF) and glomerular filtration rate (GFR) was significantly decreased after the infusion of TsV at 60, 90 and 120 min (Fig. 2). The glomerular filtration rate decreased from  $0.58 \pm 0.02$  to  $0.46 \pm 0.01$   $\text{mL g}^{-1} \text{min}^{-1}$ , after 60 min perfusion ( $p < 0.01$ ) and the urinary flow reduced from  $0.135 \pm 0.001$  to  $0.114 \pm 0.003$   $\text{mL g}^{-1} \text{min}^{-1}$ , in the same period ( $p < 0.01$ ).

Conversely, TsV did not change the percent of sodium tubular transport (% $\text{TNa}^+$ ) or the percent of potassium tubular transport (% $\text{TK}^+$ ) as demonstrated in Table 1.

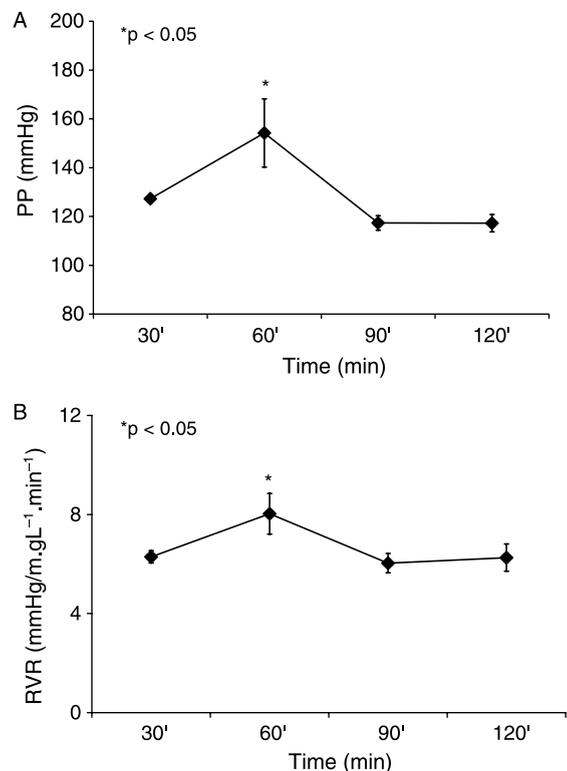


Fig. 1. Effects of *Tityus serrulatus* venom (10  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) in the perfusion pressure (PP; A) and renal vascular resistance (RVR; B) in different times. Values represent media  $\pm$  SEM ( $n=6$ ).

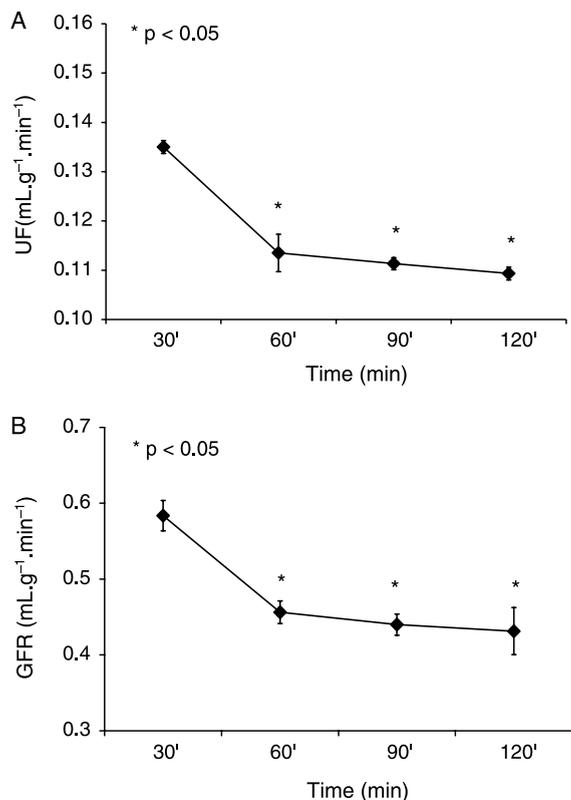


Fig. 2. Effects of *Tityus serrulatus* venom (10 µg/mL) in the urinary flow (UF; A) and glomerular filtration rate (GFR; B) in different times. Values represent media ± SEM ( $n=6$ ).

### 3.2. Effects of *Tityus serrulatus* venom in mesenteric blood vessels

*Tityus serrulatus* venom (10 µg/mL/min) also induced a significant increase in the perfusion pressure of mesenteric vascular bed. The perfusion pressure varied from control values of  $74.17 \pm 3.42$ – $151.80 \pm 17.82$  mmHg ( $p < 0.05$ ) after TsV infusion. This increase corresponds approximately to 60% of the maximal contraction attained with phenylephrine (5 µM). This effect was achieved on endothelium-intact preparations as functionally demonstrated by the relaxant response ( $89 \pm 4.6\%$ ) evoked by 1 µM injection of acetylcholine applied in the plateau-phase of phenylephrine-induced vasoconstriction (Fig. 3).

Table 1

Percent of tubular transport at different times

Times (min)	%TNa <sup>+</sup>	%TK <sup>+</sup>	%TCl <sup>-</sup>
30'	$80.37 \pm 1.38$	$57.61 \pm 3.57$	$78.39 \pm 1.70$
60'	$79.44 \pm 0.73$	$60.92 \pm 2.51$	$78.33 \pm 0.78$
90'	$80.97 \pm 1.35$	$58.69 \pm 2.96$	$80.77 \pm 1.57$
120'	$80.54 \pm 1.49$	$58.26 \pm 3.99$	$80.13 \pm 1.55$

Date are shown as Media ± SEM.  $p > 0.05$ .

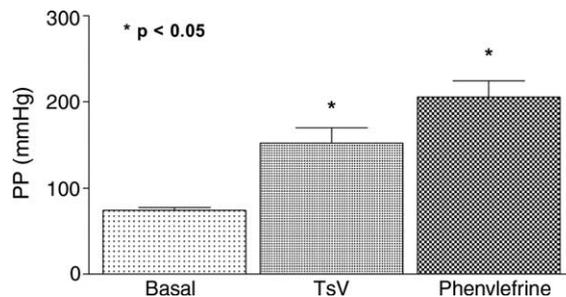


Fig. 3. Effects of *Tityus serrulatus* venom (TsV; 10 µg/mL/min) in perfusion pressure (PP) of the arteriolar mesenteric bed. Values represent media ± SEM ( $n=6$ ).

The time-course of the vasopressor effect of TsV is the same in the renal vascular bed and in the arteriolar mesenteric bed. This acute increase in the perfusion pressure fades out after 5–10 min continuous infusion.

## 4. Discussion

Studies in animals have shown that scorpion venom distributes quickly from the blood to tissues, with kidneys presenting higher concentrations 15 min after injection in rats followed by liver, lungs, and heart (Ismail and Abd-Elsalam, 1988; Bertazzi et al., 2003). Therefore, it is reasonable to hypothesize that the toxin binding to kidney may potentially induce acute renal failure in patients following severe scorpion accidents presenting higher serum urea and acid uric, peritubular congestion, decreased urinary volume and lower creatinine excretion (Nunan et al., 2003).

*Tityus serrulatus* venom promoted renal alterations increase in perfusion pressure due to increased vascular resistance leading to a decreased renal flow. This is probably related to a direct vasoconstrictor action, as demonstrated in the arteriolar mesenteric bed.

The transitory increase in PP and RVR induced by *T. serrulatus* venom could be due to activation of renal  $\alpha_1$ -adrenoceptors secondary to sodium channel slowing or blocking of inactivation mechanisms induced by TsV (Catterall, 1986; Couraud et al., 1982). For instance, the kidney efferent and afferent arterioles are rich in  $\alpha_1$ -adrenoreceptor with higher density in afferent arterioles (Strasser et al., 1992). A vascular effect was confirmed by the increase of perfusion pressure in isolated rat mesenteric arterioles. This statement is consistent with the findings of Teixeira et al. (2003) which demonstrated that TsV induces tonic contractions of the anococcygeus muscle that are mediated by activation of postjunctional  $\alpha_1$ -adrenoreceptors pointing to the involvement of neuronal Na<sup>+</sup>-channels.

This is consistent with the excitatory action of TsV on the axonal membrane by modifications (i.e. increased conductance) in voltage-dependent Na<sup>+</sup> channels

(Possani et al., 1999) and with data demonstrating peripheral nerve stimulation as adrenergic stimulation at a pre-synaptic level by neuronal Na<sup>+</sup>-channel activation (Freire-Maia, 1995; Ismail, 1995; Teixeira et al., 2003). The continuous stimulation of this channel, by continuous infusion or perfusion of tissues with TsV could lead to an inactivation of these channels (Benoit, 1998).

Alternatively, this effect could be secondary to potassium-channels blockade leading to vascular smooth muscle depolarization and contraction. For instance, several 'short peptides' from scorpion venom (30–40 amino acids residues reticulated by three or four disulphide bridges) were shown to specifically block different types of K<sup>+</sup>-channels (Tytgat et al., 1999).

The increase in perfusion pressure observed in the renal perfusion was qualitatively similar to that obtained in the arteriolar mesenteric bed. Both were rapid onset and fade out about 10 min after infusion. This may be due to a similar mechanism in these tissues. This may represent the adrenergic vascular escape phenomenon (Folkow et al., 1964). This hypothesis considers that TsV releases noradrenaline from adrenergic neurons and after persistent activation of  $\alpha$ -adrenergic receptors the vasoconstriction spontaneously fades out by a myogenic mechanism that controls vessel flow, namely vascular escape (Greenway et al., 1976).

The histopathological evaluation revealed deposit of protein in the renal tubules and urinary spaces of kidneys perfused with TsV. This may reveal that was a perflusate extravasation to the parenchyma potentially due to the TsV induced high hydrostatic pressure increase. This may explain the permanent decrease in GFR and UF since the urinary output is permanently decreased.

This high increase in perfusion pressure may explain the extravasation of protein observed. Alternatively, the presence of pore-forming peptides, as demonstrated in other scorpion species (*Buthus martensii*, e.g.) that could destabilize the basal glomerular membrane must be considered (Verdonck et al., 2000; Torres-Larios et al., 2000; Dai et al., 2001, 2002; Corzo et al., 2001). They may also increase ion permeability and G-protein activity that could increase Na<sup>+</sup> and Ca<sup>2+</sup> currents that ultimately would lead to increased perfusion pressure secondary to noradrenaline release (Mousli et al., 1990; Tossi et al., 2000). The participation of autacoids or inflammatory mediators is a subject of an ongoing study.

In conclusion, *T. serrulatus* venom produced a high increase in renal and mesenteric perfusion pressure and renal edema that are probably related to decreased glomerular filtration rate and urinary flow.

#### Acknowledgements

The authors thank Maria Silvia Helena Freire França and Domingos Barreto Oliveira for technical assistance. CNPq, Brazil supported this research.

#### References

- Becerril, B., Marangoni, S., Possani, L.D., 1997. Toxins and genes isolated from scorpions of the genus *Tityus*. *Toxicon* 35 (6), 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), 409–436.
- 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.
- Bowman, R.H., 1970. Gluconeogenesis in the isolated perfused rat kidney. *J. Biol. Chem.* 245, 1604–1612.
- Catterall, W.A., 1986. Molecular properties of voltage-sensitive sodium channels. *Annu. Rev. Biochem.* 55, 953–985.
- 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, 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.
- 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.
- 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.
- De Lima, M.E., Martin-Eauclaire, M.F., 1995. The toxins purified from *Tityus serrulatus* (Lutz and Mello) venom. *J. Toxicol. Toxin Rev.* 14 (3), 457–481.
- 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.
- 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., Sevcik, 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.
- 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, 458–466.

- Fonteles, M.C., Cohen, J.J., Black, A.J., 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., 1989. Pathophysiology and treatment of scorpion poisoning. In: Ownby, C.L., Odell, G.V. (Eds.), *Natural Toxins, Characterization, Pharmacology and Therapeutics*, Proceedings of the Ninth 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.
- 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. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 196, 390–395.
- 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.
- Ismail, M., 1995. The scorpion envenoming syndrome. *Toxicon* 33 (7), 825–858.
- Ismail, M., Abd-Elsalam, A., 1988. Are the toxicological effects of scorpion envenomation related to tissue venom concentration? *Toxicon* 26, 233–236.
- 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.
- Lourenço, W.R., 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. *J. Venom. Anim. Toxins* 2, 2.
- 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.
- 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 antivenena. *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.
- 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 Sci.* 73, 319–325.
- Pimenta, A.M.C., Legros, C., Almeida, F.M., Mansuelle, P., Lima, M.E., Bougis, P.E., Martin-Eauclaire, M.F., 2003. Novel structural class of four disulfide-bridged peptides from *Tityus serrulatus* venom. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 301, 1086–1092.
- Possani, L.D., Becerril, B., Delepierre, M., Tytgat, J., 1999. Scorpion toxins specific for Na<sup>+</sup>-channels. *Eur. J. Biochem.* 264 (2), 287–300.
- 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.
- Robert, A.B., 1991. Envenomation by the scorpion *Centruroides exilicauda sculpturatus*. Severe and unusual manifestations. *Pediatrics* 87, 930.
- Sofer, S., Gueron, M., White, R., Lifshitz, M., Apte, R., 1996. Interleukin-6 release following scorpion sting in children. *Toxicol.* 34, 389–392.
- Strasser, R.H., Ihl-Val, R., Marquetant, R., 1992. Molecular review: molecular biology of adrenergic receptors. *J. Hypertens.* 10, 501–506.
- 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.
- 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), 451–460.
- Torres-Larios, A., Gurrola, G.B., Zamudio, F.Z., Posan, L.D., 2000. Hadrurin, a new antimicrobial peptide from venom of the scorpion *Hadrurus arzacus*. *Eur. J. Biochem.* 267, 5023–5031.
- Tossi, A., Sandri, L., Giangaspero, A., 2000. Amphipathic,  $\alpha$ -helical antimicrobial peptides. *Biopolymers* 55, 4–30.
- 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. *Braz. J. Med. Biol. Res.* 33 (9), 1053–1058.
- Tytgat, J., Chandy, K.G., Garcia, M.L., Gutman, G.A., Martin-Eauclaire, 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), 444–447.
- 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.
- Walser, M., Davidson, D.G., Orloff, J., 1955. The renal clearance of alkali-stable inulin. *J. Clin. Invest.* 34, 1520–1523.