

**Eduardo Lara Ribeiro**

**AVALIAÇÃO CLÍNICA E LABORATORIAL DE  
CÃES SUBMETIDOS AO ENVENENAMENTO  
POR *Tityus serrulatus* LUTZ E MELLO, 1922  
(SCORPIONES, BUTHIDAE)**

Dissertação apresentada à Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Ciência Animal.

**Área:** Medicina e Cirurgia Veterinárias

**Orientadora:** Profa. Marília Martins Melo

Belo Horizonte  
UFMG – Escola de Veterinária  
2008

R484a Ribeiro, Eduardo Lara, 1981-

Avaliação clínica e laboratorial de cães submetidos ao envenenamento por *Tityus serrulatus* Lutz e Mello, 1922 (Scorpiones, Buthidae) / Eduardo Lara Ribeiro. – 2008.

100 p. : il.

Orientadora: Marília Martins Melo

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Veterinária

Inclui bibliografia

1. Escorpião – Veneno – Teses. 2. Envenenamento – Teses. 3. Animais – Experimentação – Teses. 4. Cão como animal de laboratório – Teses. I. Melo, Marília Martins. II. Universidade Federal de Minas Gerais. Escola de Veterinária. III. Título.

CDD – 615.942

Dissertação defendida e aprovada em 07 de março de 2008, sendo a banca examinadora:

*Marília M. J. Melo*

---

Profª. Dra. Marília Martins Melo  
(Orientadora)

*Vitor M. Ribeiro*

---

Prof. Dr. Vítor Márcio Ribeiro

*Gilcineia S. Santana*

---

Profª. Dra. Gilcinéa de Cássia Santana





A Deus,  
por surpreender-me todos os dias com o Seu amor infinito  
e por manter-me sempre preparado para tal.

E a Maria Santíssima,  
pelo aconchego de seu colo maternal.

*“Eu não preciso ser reconhecido por ninguém.  
A minha glória é fazer com que conheçam a Ti.*

*E que diminua eu prá que Tu cresças, Senhor, mais e mais!*

*E como os serafins que cobrem o rosto ante a Ti,  
escondo o rosto pra que vejam Tua face em mim.*

*E que diminua eu prá que Tu cresças, Senhor, mais e mais!*

*Nos Santo dos santos a fumaça me esconde, só Teus olhos me vêem.  
Debaixo de Tuas asas é o meu abrigo, meu lugar secreto.  
Só Tua Graça me basta e Tua presença é o meu prazer!”*

Toque do Altar

*“Esta é minha alegria, e ela é muito grande.  
É preciso que Ele cresça e eu diminua.”  
Jo 3, 29b-30*

*“O que os olhos não viram, os ouvidos não ouviram e  
o coração do homem jamais percebeu, foi isso que Deus preparou  
para aqueles que o amam.”  
1Cor 2, 9*

*“Mesmo que tenhamos conhecido Cristo segundo as aparências,  
agora já não o conhecemos assim.  
Se alguém está em Cristo, é nova criatura.  
As coisas antigas passaram;  
eis que uma nova realidade apareceu.”  
2Cor 5, 16b-17*

---

## AGRADECIMENTOS

---

Além da oportunidade, Deus colocou em meu caminho **pessoas** que, pouco ou muito, doaram-se para a realização desse trabalho. A todos eles também dedico esta dissertação.

Agradeço a **meus pais e irmãos**. Posição acadêmica nenhuma é mais importante que as se têm em casa: filho e irmão. Agradecimentos especiais ao **Antônio** e à **Denise**, por terem adotado o **Dick**, à **Dulcemar** e à **Márcia**, que ficaram com o **Branco (Kindelê)** e à minha cadela, **Pretinha**, que teve que dividir sua casinha com o **Ulisses** e **meus pais** por aceitarem mais um “neto”. Ao meu irmão, **Leonardo**, e meu **Tio Waldir** pelo incentivo de todas as formas.

**Professora Marília Martins Melo**, minha orientadora. Obrigado por esses quatro anos de Iniciação Científica e Mestrado, um período de muito aprendizado e decisões, em que escolhi a carreira acadêmica. Levarei comigo a sua competência, seu profissionalismo, sua lealdade e, sobretudo, a sua amizade por onde eu for. Que Deus a abençoe sempre!

Colegas da Pós-Graduação: **Neide, Patrícia, Paulo Gabriel, Elaine, Durval, Mariana, Jennifer, Ernane, Tatiana**. Não é à toa que, às vezes, chamamos os orientadores de “pai” ou “mãe”, pois só irmãos se compreendem tão bem e colaboram gratuitamente entre si. Obrigado a todos pela oportunidade de acompanhá-los em seus trabalhos, e por me ajudarem, quando a minha vez chegou. Nada seria possível sem vocês.

**Tatiana Chalfun**, serei sempre grato pela sua ajuda, compreensão e, principalmente por dividir comigo um projeto tão difícil e longo. Obrigado por tudo que me ensinou, por tudo em que me ajudou e por ter vencido certas barreiras da minha timidez que nem todos sabem quebrar, dizendo sempre o que eu precisava ouvir nos momentos de maior dificuldade. Volta logo, que a Inglaterra não te merece!

Agradecimento muito especial aos **Drs. Marcos Barrouin e Euler Fraga**, pela valiosíssima contribuição na parte de Cardiologia deste trabalho, sobretudo pelo tempo dedicado ao meu experimento.

**Carla Labarrère e Fernanda Merlo**. Sempre admirei muito a determinação e a atenção delas, por mais cedo que começasse o experimento, ou por mais tarde que os ecocardiogramas acabassem. Por vezes me lembrei do quanto é difícil conciliar a graduação com estágios e Iniciação Científica, e depois de suas ajudas passei a dar mais valor ainda a tudo que fiz em minha caminhada. Que continuem sempre assim!

Obrigado, **Márcia Resende, Fernando Carbonari, Stella, Bruno Lapertosa, Josiane Bernardino, Isabele, Fernanda Diniz e Natália**. Apesar de muitos momentos de solidão no Laboratório de Toxicologia, o que mais tenho apreço são nossos intermináveis exames, sempre com muita descontração. Valeu, por tudo!

Agradeço aos **colegas de Mestrado**, pela partilha de momentos difíceis, pelos desabafos, críticas e sugestões.

Obrigado, **Wandréa, Clarice, Anália, Profa. Eliane Gonçalves Mello**, pela disponibilização de seus cães para o experimento. Agradeço, também, aos Centros de Controle de Zoonoses de Belo Horizonte e Betim, de onde vieram todos.

**Marcelo Rennó, Dona Cida, Bruno de Abreu, Eliana, Sr. Weber, Tia Adriane, Onara, Bruno, Maria do Carmo** e todos os demais que adotaram os cães deste experimento, muito obrigado!

Agradeço ao **Prof. Élvio Carlos Moreira**, do Laboratório de Epidemiologia da EV pela realização dos exames de leishmaniose visceral canina.

Ao **Prof. Júlio César Cambraia Veado** pelo empréstimo do consultório 6 do Hospital Veterinário.

Ao **Prof. Geraldo Eleno Silveira Alves** pelo empréstimo do estetoscópio ultrassônico *Doppler* para a mensuração de pressão arterial.

Aos **Profs. Renato Lima Santos e Roberto Maurício Carvalho Guedes** por cederem espaço no freezer -80° para o estoque de amostras.

Agradeço aos professores **Paulo Ricardo de Oliveira Paes e Fabíola Paes Leme** pela colaboração e por ter cedido tantas vezes o LAC. Por isso, agradeço, ainda, à **Joelma, à Renata, à Laura** e ao **Gregório**.

Agradeço à **Profa. Gilcinéia de Cássia Santana** pela partilha da experiência com o escorpionismo e pelas sugestões.

Agradeço aos Professores **Carlos Delfín Chávez-Olórtegui e Evanguedes Kalapothakis** por terem cedido o veneno e a toda a equipe de seus laboratórios, em especial **Liza, Léo, Diogo, Ricardo e Jamil**.

**Maria Izabel Plazzi**, ex-funcionária do Centro de Controle de Zoonoses de Ituiutaba, e equipe. Eu iria quantas vezes fosse necessário a **Ituiutaba** conseguir o material para a nossa pesquisa, mas também para estar com uma pessoa tão agradável e prestativa. Muito obrigado!

Aos **Professores Marcos Xavier e Ângela Quintão** pela revisão estatística e ao **Danilo**, da UPD, pela paciência, prestatividade e competência.

**Profa. Cleuza Faria Rezende, Prof. Ernane Fagundes do Nascimento e Prof. Valentim Arabicano Gheller**, chefes do DCCV e do HV nesse período, muito obrigado por tudo que me foi disponibilizado.

Agradeço ao **Professor Luiz Alberto do Lago**, que foi a primeira pessoa que me contatou para a IC. Sei que, mesmo de longe, torceu por mim.

Aos **Professores Andrey Pereira Lage, Francisco Carlos Lobato, Marcos Bryan Heinemann e Zélia Inês Portela Lobato**, do DMVP, que tantas vezes cederam seus laboratórios e equipamentos e, ainda, lecionaram disciplinas importantes para a minha



formação. Agradeço também à **Simone Machado, Felipe Masiero, Telma, Catarina, Cíntia, Grazi, Eduardo e Priscilla** por todas as assistências de que precisei.

Agradecimento especial aos enfermeiros que inúmeras vezes me ajudaram nas coletas de sangue: **Liu, Pedro, Messias, Tião, Carlos, Hélder e Aílton**. Nos momentos em que precisei, sempre tinha alguém por perto para dar uma força, por isso, agradeço às residentes (**Paula, Gabi, Ana Paula, Marina, Valéria, Fernanda**), estagiários e alunos da graduação.

Na Escola de Veterinária, no Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária, no Hospital Veterinário e no Colegiado de Pós-Graduação tantas pessoas me atenderam e ajudaram de boa vontade, agora fazem parte também dessa conquista: **Lourdes, Rosângela, Eliane, Mel, Marilene, Ronaldo, Mércio, Joaquim, Creide, Adriano, Nilda, Débora, Sávio, Norma, Cidas, Fábio, Nei, Gilmar e Éder**.

Ao **Eli** e ao **Eduardo** agradeço pela realização dos raios-x.

À **Dra. Vany Ferraz**, do Departamento de Química, pelas longas tardes de Cromatografia Gasosa.

Aos **Drs. Bruno Torres, Fátima e Sabrina**, pela castração dos cães após o experimento.

À **Evenilde Picardi**, do Laboratório de Nutrição da EV, pela realização do radioimunoensaio e ao **Prof. Antônio de Pinho Marques Júnior**, pela cessão do aparelho contador gama.

Ao **CETEA**, pela apreciação ética do projeto de pesquisa.

Ao **CNPq** e à **FAPEMIG** pelo financiamento e à **Socil Guydomarch** pelo patrocínio de parte da ração canina usada durante o experimento

---

## SUMÁRIO

---

	<b>SUMÁRIO</b> .....	9
	<b>LISTA DE TABELAS</b> .....	10
	<b>LISTA DE FIGURAS</b> .....	13
	<b>LISTA DE ABREVIATURAS</b> .....	15
	<b>RESUMO</b> .....	17
	<b>ABSTRACT</b> .....	18
<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	19
<b>2</b>	<b>REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	19
2.1	Os escorpiões .....	19
2.2	Epidemiologia .....	21
2.3	O veneno dos escorpiões .....	23
2.4	Efeitos clínicos .....	25
2.5	Diagnóstico e Tratamento .....	35
<b>3</b>	<b>OBJETIVOS</b> .....	36
3.1	Objetivo geral.....	36
3.2	Objetivos específicos.....	36
<b>4</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	36
4.1	Veneno.....	36
4.2	Experimento-piloto.....	37
4.3	Experimento principal.....	38
4.3.1	Cães.....	38
4.3.2	Exames clínicos .....	39
4.3.3	Exames laboratoriais.....	40
4.3.4	Análises estatísticas.....	41
4.4	Ética em experimentação animal.....	41
<b>5</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	41
5.1	Considerações gerais e experimento-piloto.....	41
5.2	Experimento principal.....	47
5.2.1	Comportamento, alterações locais e exame clínico.....	47
5.2.2	Hemograma.....	56
5.2.3	Urinálise.....	61
5.2.4	Bioquímica sérica.....	62
5.2.5	Avaliação cardiovascular.....	76
<b>6</b>	<b>CONCLUSÕES</b> .....	85
<b>7</b>	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	85
<b>8</b>	<b>CERTIFICADO DO CETEA</b> .....	<b>99</b>

---

**LISTA DE TABELAS**

---

Tabela 1	Peso dos cães do grupo II (envenenado) e quantidade total de veneno de <i>Tityus serrulatus</i> inoculada.....	39
Tabela 2	Valores de hemácias, volume globular, leucócitos totais, neutrófilos e linfócitos dos cães do experimento-piloto antes e após a inoculação de veneno de <i>Tityus serrulatus</i> .....	44
Tabela 3	Frequência cardíaca, intervalos QRS, QT e PR e média aritmética das pressões arteriais sistólica e diastólica dos cães do experimento-piloto antes e após a inoculação de veneno de <i>Tityus serrulatus</i> .....	45
Tabela 4	Níveis de glicose (mg/dl), AST (U/l), CK (U/l) e amilase (U/l), dos cães do experimento-piloto antes e após a inoculação de veneno de <i>Tityus serrulatus</i> .....	46
Tabela 5	Temperatura retal média (°C) dos cães inoculados com placebo (grupo I) e com veneno de <i>Tityus serrulatus</i> (grupo II) em diferentes tempos.....	55
Tabela 6	Frequências cardíacas (bat./min) de cães inoculados com placebo (grupo I) e com veneno de <i>Tityus serrulatus</i> (grupo II) em diferentes tempos.....	55
Tabela 7	Valores médios de hemácias e Volume Globular dos cães inoculados com placebo (grupo I) e com veneno de <i>Tityus serrulatus</i> (grupo II) em diferentes tempos.....	56
Tabela 8	Valores médios das concentrações de hemoglobina dos cães inoculados com placebo (grupo I) e com veneno de <i>Tityus serrulatus</i> (grupo II) em diferentes tempos.....	56
Tabela 9	Valores médios de Hemoglobina Globular Média, HGM, Volume Globular Médio, VGM e Concentração de Hemoglobina Globular Média, CHGM dos cães inoculados com placebo (grupo I) e com veneno de <i>Tityus serrulatus</i> em diferentes tempos.....	57
Tabela 10	Valores médios de plaquetas dos cães inoculados com placebo (grupo I) e com veneno de <i>Tityus serrulatus</i> em diferentes tempos.....	58
Tabela 11	Valores médios de leucócitos totais dos inoculados com placebo (grupo I) e com veneno de <i>Tityus serrulatus</i> em diferentes tempos.....	59
Tabela 12	Valores médios de neutrófilos e linfócitos dos cães inoculados com placebo (grupo I) e com veneno de <i>Tityus serrulatus</i> em diferentes tempos.....	59
Tabela 13	Valores de leucócitos totais e neutrófilos dos cães do grupo II inoculados com veneno de <i>Tityus serrulatus</i> em diferentes tempos.....	60

Tabela 14	Valores médios de monócitos e eosinófilos dos cães inoculados com placebo (grupo I) e com veneno de <i>Tityus serrulatus</i> em diferentes tempos.....	61
Tabela 15	Valores séricos médios de uréia e creatinina de cães inoculados com placebo (grupo I) e com veneno de <i>T. serrulatus</i> (grupo II) em diferentes tempos.....	63
Tabela 16	Valores séricos médios de potássio de cães inoculados com placebo (grupo I) e com veneno de <i>T. serrulatus</i> (grupo II) em diferentes tempos...	64
Tabela 17	Valores séricos médios de proteínas, albumina e relação albumina/globulina (A/G) de cães inoculados com placebo (grupo I) e com veneno de <i>T. serrulatus</i> (grupo II) em diferentes tempos.....	65
Tabela 18	Valores séricos médios de globulinas alfa, beta e gama de cães inoculados com placebo (grupo I) e inoculados com veneno de <i>T. serrulatus</i> (grupo II) em diferentes tempos.....	65
Tabela 19	Valores séricos de ALT de cães inoculados com placebo (grupo I) e com veneno de <i>T. serrulatus</i> (grupo II) em diferentes tempos.....	66
Tabela 20	Valores séricos de ALT (U/l) de cães inoculados com veneno de <i>Tityus serrulatus</i> (grupo II) em diferentes tempos.....	67
Tabela 21	Valores séricos de LDH e AST de cães inoculados com placebo (grupo I) e com veneno de <i>Tityus serrulatus</i> (grupo II) em diferentes tempos.....	68
Tabela 22	Valores séricos de AST (U/l) de cães inoculados com veneno de <i>Tityus serrulatus</i> (grupo II) em diferentes tempos.....	68
Tabela 23	Valores séricos médios de CK de cães inoculados com placebo (grupo I) e com veneno de <i>Tityus serrulatus</i> (grupo II) em diferentes tempos.....	69
Tabela 24	Valores séricos médios de amilase pancreática de cães inoculados com placebo (grupo I) e com veneno de <i>Tityus serrulatus</i> (grupo II) em diferentes tempos.....	72
Tabela 25	Valores plasmáticos médios de glicose de cães inoculados com placebo (grupo I) e com veneno de <i>Tityus serrulatus</i> (grupo II) em diferentes tempos.....	73
Tabela 26	Valores plasmáticos de glicose (mg/dl) de cães inoculados com veneno de <i>Tityus serrulatus</i> (grupo II) em diferentes tempos.....	74
Tabela 27	Valores séricos médios de cortisol e de insulina de cães noculados com placebo (grupo I) e com veneno de <i>Tityus serrulatus</i> (grupo II) em diferentes tempos.....	74

Tabela 28	Valores séricos de cortisol (ng/dl) e de insulina ( $\mu$ U/ml) de cães inoculados com veneno de <i>Tityus serrulatus</i> (grupo II) em diferentes tempos .....	75
Tabela 29	Valores médios de pressão arterial sistólica de cães inoculados com placebo (grupo I) e com veneno de <i>Tityus serrulatus</i> (grupo II) em diferentes tempos.....	77
Tabela 30	Valores médios de pressão arterial sistólica (mmHg) de cães inoculados com veneno de <i>Tityus serrulatus</i> (grupo II) em diferentes tempos.....	77
Tabela 31	Frequência cardíaca (FC), complexos QRS e intervalos QT e PR de eletrocardiogramas de cães inoculados com placebo (grupo I) e com veneno de <i>Tityus serrulatus</i> (grupo II) em diferentes tempos.....	80
Tabela 32	Comprimento do átrio esquerdo e da raiz da aorta e relação átrio esquerdo/aorta (AE/Ao) dos cães inoculados com placebo (grupo I) e com veneno de <i>Tityus serrulatus</i> (grupo II) antes e após 10h.....	81
Tabela 33	Velocidade máxima do fluxo mitral, velocidade das ondas E e A e relação onda E/onda A (E/A) dos cães inoculados com placebo (grupo I) e com veneno de <i>Tityus serrulatus</i> (grupo II) antes e após 10h.....	81
Tabela 34	Velocidades máximas dos fluxos aórtico, tricúspide e pulmonar dos cães inoculados com placebo (grupo I) e com veneno de <i>Tityus serrulatus</i> (grupo II) antes e após 10h.....	82
Tabela 35	Índices de função ventricular esquerda dos cães inoculados com placebo (grupo I) e com veneno de <i>Tityus serrulatus</i> (grupo II) antes e após 10h.....	82

---

**LISTA DE FIGURAS**

---

Figura 1	Exemplar do escorpião <i>Tityus serrulatus</i> , o escorpião-amarelo. (Foto: Marina Farcic Mineo).....	21
Figura 2	Extração do veneno de <i>T. serrulatus</i> . Em A e B, compressão do aguilhão do escorpião contra uma peça de parafilme. Em C, recolhimento das gotículas ejetadas sobre o parafilme.....	37
Figura 3	Seringa de 1ml usada para a inoculação do placebo e do veneno, com dispositivo de esparadrapo adaptado à agulha para mimetizar o aguilhão do escorpião.....	38
Figura 4	Mensuração da pressão arterial. Acima, o posicionamento da probe do estetoscópio ultrassônico sobre o ramo digital comum da artéria radial. Abaixo, o posicionamento do manguito e do esfigmomanômetro.....	39
Figura 5	Posição do membro posterior esquerdo dos cães do experimento-piloto 30 min após a inoculação do veneno de <i>Tityus serrulatus</i> . A: cão 1 (25µg/kg) e B: cão 2 (50µg/kg).....	43
Figura 6	Membro posterior esquerdo estendido na deambulação (claudicação), apresentado pelos cães 1 e 3 imediatamente após a inoculação de veneno de <i>Tityus serrulatus</i> .....	48
Figura 7	Postura dos cães 30 minutos após a inoculação do veneno de <i>Tityus serrulatus</i> . À esquerda, cão 2 em estação evitando apoiar o membro afetado no chão. À direita, cão 5 sentando-se com dificuldade e mantendo o membro posterior esquerdo flexionado.....	48
Figura 8	Cães 1 e 5 lambendo repetidas vezes o membro posterior esquerdo, 1h após a inoculação do veneno de <i>Tityus serrulatus</i> .....	48
Figura 9	Comportamentos do cão 2 após a inoculação do veneno de <i>Tityus serrulatus</i> , deitando com dificuldade.....	49
Figura 10	Comportamentos dos cães após a inoculação do veneno de <i>Tityus serrulatus</i> . A: cão 1 deitado sobre o lado direito, imóvel e mantendo o membro afetado bastante flexionado; B: cão 2 deitado, depois de ter permanecido uma hora de pé ou sentado, também mantendo o membro flexionado; C: cão 3 apresentando apatia e sonolência; D: cão 4, alimentando-se normalmente, 1,5h após o envenenamento.....	50
Figura 11	Local de aplicação do veneno de <i>Tityus serrulatus</i> , no cão 4, apresentando discreta hiperemia (seta).....	50
Figura 12	Cão 4 apresentando secreção fluida nas narinas durante crise de espirros....	52

Figura 13	Cão 6 abaixando a cabeça e esfregando-a no chão, durante uma crise de espirros.....	52
Figura 14	Cão 1 apresentando sialorréia após inoculação de veneno de <i>T. serrulatus</i> ...	52
Figura 15	Vômito apresentado pelo cão 2 3,5h após, de consistência mucosa e com pouco conteúdo alimentar.....	53
Figura 16	Cão 6 apresentando edema subcutâneo na face e no pescoço e mucosa oral congesta 1h após a inoculação do veneno de <i>T. serrulatus</i> .....	53
Figura 17	Separação eletroforética das proteínas do soro do cão 2 em filmes de agarose. Da esquerda para a direita distinguem-se as bandas em albumina, $\alpha$ , $\beta$ e $\gamma$ globulinas.....	66
Figura 18	Teste imunocromatográfico para a detecção de cTnI no soro do cão 6 em T zero e em T1. A faixa vermelho-violeta formada na parte “C” indica resultado negativo, ou seja, níveis de cTnI menores que 1ng/ml.....	70
Figura 19	Eletrocardiograma do cão 1, derivação II, mostrando arritmia sinusal, representada por diferentes intervalos RR e segmento ST retilíneo.....	80
Figura 20	Ecocardiograma do cão 4, Modo-M, no momento em que se fazia, durante a diástole, as medidas da espessura do septo intraventricular (A), do diâmetro intero do ventrículo esquerdo (B) e da parede posterior do ventrículo esquerdo (C).....	83
Figura 21	Radiografias torácicas ventro-dorsais do cão 6, antes (A) e depois de 7h (B) da inoculação do veneno de <i>Tityus serrulatus</i> , mostrando inalterações das áreas cardíaca e pulmonar.....	84

---

## LISTA DE ABREVIATURAS

---

ALT	Alanina aminotransferase
AST	Aspartato aminotransferase
CHGM	Concnetração de hemoglobina globular média
CK	Creatina quinase
cTnI	Troponina I cardíaca
DL <sub>50</sub>	Dose letal 50
DVE	Diâmetro do ventrículo esquerdo
ECG	Eletrocardiograma
EDTA	Sal dissódico do ácido etilenodiaminotetracético
ELISA	Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
EPSS	Distância entre o septo ventricular e a abertura máxima inicial da valva mitral
FC	Frequência cardíaca
FR	Frequência respiratória
HGM	Hemoglobina globular média
LDH	Lactato desidrogenase
PAF	Fator Ativador Plaquetário
PAS	Pressão Arterial Sistólica
PPVE	Parede posterior do ventrículo esquerdo
PT	Proteínas totais
SEE	Síndrome do Envenenamento Escorpiónico
SIV	Septo intraventricular
TR	Temperatura retal
TRIV	Tempo de relaxamento isovolumétrico
VG	Volume globular
VGM	Volume globular médio





## RESUMO

O escorpionismo é um problema de saúde pública importante no Brasil, especialmente em Minas Gerais. Embora os efeitos clínicos do veneno escorpiônico sejam bem estudados em humanos, quase nada é conhecido sobre a ação do veneno em animais domésticos. O objetivo deste trabalho foi avaliar o quadro clínico e exames laboratoriais de cães após a inoculação de veneno bruto do escorpião *Tityus serrulatus*. Doze cães adultos, saudáveis ( $14,2 \pm 5,4$ kg) foram distribuídos em dois grupos iguais: GI (controle) e GII (veneno). O veneno liofilizado ( $250\mu\text{g/kg}$ ) diluído em 0,5ml de salina tamponada com fosfato (PBS) foi aplicado por via subcutânea na face medial da coxa esquerda dos cães do grupo II. O grupo I recebeu 0,5ml de PBS, como placebo. Ambos grupos passaram por exames clínicos, com avaliação de parâmetros cardiovasculares, incluindo eletrocardiograma, ecocardiograma, mensuração da pressão arterial sistólica e radiografia torácica, além de hemograma, urinálise e análise bioquímica dos níveis sanguíneos de cortisol, insulina, creatina quinase (CK), alanina aminotransferase (ALT), aspartato aminotransferase (AST), lactato desidrogenase (LDH), troponina cardíaca (cTnI), amilase, glicose, potássio, proteínas totais e eletroforese das proteínas séricas. Até 12 horas após o envenenamento, os cães do GII mostraram diversas alterações de comportamento, como manifestações de dor no local da aplicação, espirros, salivação, sialorréia, dor abdominal e letargia. Não foram observadas alterações no traçado eletrocardiográfico, na função ventricular e nos fluxos valvulares examinados pelo ecoDopplercardiograma e na imagem radiográfica do tórax. Os cães do GII apresentaram aumentos de hematócrito e leucocitose com neutrofilia 2 e 6 horas após o envenenamento e nesses mesmos tempos, discretos aumentos de ALT, AST, CK e glicose, sem alterações em LDH, cTnI, amilase, uréia, creatinina, potássio e proteínas totais. Não houve aumento de proteínas de fase aguda. Um cão apresentou glicosúria. Nas primeiras 6 horas aumento nos níveis de cortisol foi observado, provavelmente em resposta à dor, coincidindo com a hiperglicemia. Elevações de insulina foram notadas em resposta à glicemia. Houve aumento de pressão arterial sistólica até 8 horas após o envenenamento. Conclui-se que, apesar do veneno de *T. serrulatus* induzir sinais clínicos diversos em cães, possui baixa gravidade.

**Palavras-chave:** veneno escorpiônico, cão, envenenamento, *Tityus serrulatus*

## ABSTRACT

Scorpion envenomation is an important public health problem in Brazil, especially in the state of Minas Gerais. Although the clinical effects of scorpion venom are well understood in humans, almost nothing is understood about the action of venom in domestic animals. Indeed, there has been very little research regarding the negative effect of venom in household pets. To address this problem a study was undertaken to examine the deleterious effect of scorpion venom in domesticated dogs. In order to observe the clinical effects of scorpion sting, Twelve healthy mongrel male dogs (weighing 10,3kg) were divided in two groups, with six animals each: group I (control group) and group II (venom group). The lyophilized yellow scorpion (*Tityus serrulatus*) venom (250µg/kg) diluted in 0,5ml phosphate buffered saline (PBS) was given to group II by subcutaneous injection, in the left forearm, medial face. Group I received only 0,5ml of PBS, by subcutaneous injection, in the left forearm, medial face. Both groups underwent clinical examination, with systemic cardiovascular parameters (including electrocardiogram, echocardiogram evaluation of arterial blood pressure and chest X-rays), blood profile, urinalysis, biochemical analysis such as serum levels of cortisol, insulin, creatine kinase (CK), alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), lactate dehydrogenase (LDH), cardiac troponin I (TnI), amylases, glucose, potassium, total protein and serum electrophoresis protein. After envenomation, until 12h, dogs from group II showed several behavioral changes, such as the manifestation of intense local pain, sneezing, excessive salivation, vomiting, abdominal pain and lethargy. In both groups, no major change was observed in echocardiography and in electrocardiography, except for slight sinus arrhythmia. Six hours after venom administration, the animals of group II displayed increased hematocrit values, leukocytosis with neutrophilia. Also at this time point there were discreet increases of ALT, AST, CK and hyperglycaemia, without alterations in LDH, TnI, amylases, urea, creatinine, potassium and total protein levels. There wasn't increase in acute phase protein. Only one dog, from group II, presented glycosuria. In the first six hours, an increase in cortisol levels was observed, probably in response to the pain, coinciding with the hyperglycemia. Insulin elevations were noticed in response to the glycemia. Until 8h after venom administration, the envenomed dogs (GII) showed systolic blood pressure increased. In conclusion, this study showed that *T. serrulatus* venom may induce a variety of clinical symptoms and effects in dogs.

**Keywords:** scorpion venom, dog, envenomation, *Tityus serrulatus*

## 1. INTRODUÇÃO

A produção de substâncias tóxicas como forma de defesa é uma das propriedades adquiridas por muitas espécies de plantas e animais invertebrados e vertebrados ao longo da evolução, representando variabilidade e biodiversidade entre as espécies. Um animal produz veneno a partir da transformação metabólica de outras substâncias, obtidas pela alimentação, armazenamento de toxinas de outros organismos (bactérias, plantas ou outros animais) ou, ainda, pela produção de suas próprias proteínas tóxicas, expressando-se seus genes. Toxinas podem ter alto valor farmacológico e ter diferentes atividades biológicas, locais ou sistêmicas, sendo sítio-específicas ou não; ser formadas por diferentes tipos de compostos químicos e apresentar numerosos peptídeos em sua estrutura molecular, ou ainda, participar de processos enzimáticos, de inibição, de exacerbação ou de modulação de funções (Gazarian et al., 2005).

Apesar das aranhas e escorpiões produzirem venenos muito bem adaptados para matar ou paralisar presas, especialmente insetos, acidentalmente grandes mamíferos, incluindo o homem, também podem ser atingidos por estes venenos, desenvolvendo grave sintomatologia clínica e chegando até ao óbito (Kalapothakis, 2000; Gazarian et al., 2005).

O escorpionismo representa um importante problema de saúde pública em muitos países, em áreas de clima tropical e subtropical, especialmente nos centros urbanos. O veneno escorpiônico causa diversos efeitos locais e sistêmicos com diversidade de sinais clínicos que formam uma síndrome. Aliado ao fato de nestas partes do mundo estar compreendida a maioria dos países subdesenvolvidos, as consequências da Síndrome do Envenenamento Escorpiônico (SEE) têm

sido subestimadas, nunca projetadas corretamente em estatísticas e ainda tratadas com medidas arcaicas e ineficientes. À exceção dos estudos conduzidos por pesquisadores, os problemas da SEE sofrem ainda negligência internacional (Ismail, 1995). Cerca de 50, das mais de 1500 espécies de escorpiões conhecidas em todo o mundo, são nocivas para pessoas, devido ao alto grau de toxicidade de seus venenos (Gazarian et al., 2005).

A despeito da importância do escorpionismo para a saúde pública, são raros os relatos e pesquisas na literatura científica na Medicina Veterinária. Dos animais domésticos, o cão poderia ser mais comumente vítima dos escorpiões, por coabitar com o homem, sobretudo nos centros urbanos. O escorpionismo deve ser estudado como problema regional, já que a cidade de Belo Horizonte é considerada “solo escorpionífero” (Bürcherl, 1969) e um grande número de acidentes causados por escorpiões do gênero *Tityus* ocorre nesta cidade (Campolina, 2006). Diante deste contexto, torna-se imperativo o estudo clínico de cães após inoculação experimental de veneno de *Tityus serrulatus*.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 – Os escorpiões

Escorpiões são artrópodes (*Arthropoda*) quelicerados (*Chelicerata*), incluídos na classe dos aracnídeos (*Arachnida*). São animais muito antigos, sendo estimada a sua origem em cerca de 400 milhões de anos (Lourenço e Eickstedt, 2003; Melo et al., 2004b). De origem aquática, foram considerados por muitos anos os organismos pioneiros na conquista do ambiente terrestre durante o período Siluriano, embora estudos paleontológicos recentes tenham

demonstrado que as formas terrestres de escorpiões surgiram no período Carbonífero (Kjellsvig-Waering, 1986 e Sissom, 1990, citados por Lourenço e Eickstedt, 2003).

Embora seja um grupo muito homogêneo quanto às suas características morfológicas, a ordem *Scorpiones* é considerada numericamente pequena, englobando cerca de 1500 espécies em 18 famílias (Fet et al., 1998; Lourenço, 2001; Lourenço e Eickstedt, 2003). A família *Buthidae* comporta a maior parte das 50 espécies nocivas, aproximadamente, sendo que as toxinas das demais espécies de escorpiões não causam reações graves em caso de picada (Lourenço e Eickstedt, 2003; Gazarian et al., 2005). É também a única família com distribuição geográfica em todos os continentes, exceto Antártida. As regiões de maior incidência de acidentes escorpiônicos são África do Norte, Oriente Médio, costa Oeste mexicana, Sudeste e Nordeste do Brasil e Trinidad e Tobago. Em outras regiões do mundo os acidentes são pouco frequentes e, em geral, mal documentados. Os gêneros de escorpiões mais nocivos são: *Androctonus* e *Leiurus* (África do Norte e Oriente Médio), *Centruroides* (México e Estados Unidos) e *Tityus* (América do Sul e Trinidad e Tobago) (Lourenço, 2001; Lourenço e Eickstedt, 2003).

Nas últimas décadas, o estudo da escorpiofauna da América do Sul tem revelado diversidade expressiva, com aumento no número de espécies novas identificadas. No Brasil, apesar da grande extensão territorial, considera-se a fauna de escorpiões relativamente pobre (quatro famílias, 15 gêneros e 86 espécies). Este fato deve-se ao relevo monótono, sem grandes barreiras geográficas que pudessem favorecer a especiação e, também, à presença de uma fauna recente que evoluiu no próprio continente. Assim, dentre os cinco gêneros de butídeos que ocorrem no Brasil (*Ananteris*, *Isometrus*, *Microtityus*,

*Rhopalurus* e *Tityus*), apenas *Tityus* têm espécies potencialmente nocivas. Há, relativamente, poucas espécies incriminadas nos acidentes, basicamente por dois motivos: (1) os acidentados procuram atendimento médico apenas em casos graves de envenenamento e, na maioria das vezes, não se captura ou não se identifica o escorpião; (2) a ocorrência de acidentes depende da densidade e da possibilidade da população escorpiônica entrar em contato com o homem, ou seja, depende de sua adaptabilidade ao ambiente urbano (Lourenço et al., 1996; Lourenço, 2001).

As principais espécies de escorpiões do Brasil e suas distribuições geográficas são: *Tityus serrulatus* (escorpião-amarelo) encontrado nos estados de Minas Gerais, Bahia, Espírito Santo, Rio de Janeiro e São Paulo; *T. bahiensis* (escorpião-marrom) descrito da Bahia até Santa Catarina e no Mato Grosso do Sul (Lourenço et al., 1996; Soares et al., 2002); *T. stigmurus* (Eickstedt, 1983/1984; Lira-da-Silva et al., 2000) e *T. cambridgeis* (Pardal et al., 2003) espécies relatadas nas regiões Nordeste e Norte, respectivamente e, ainda, *T. fasciolatus* descrito na região central do Brasil, principalmente Distrito Federal e Triângulo Mineiro (Barbosa et al., 2002; Wagner et al., 2003).

A espécie de escorpião mais importante, no Brasil, é *T. serrulatus* Lutz e Mello, 1922, o escorpião-amarelo (Figura 1) (Bürcherl, 1969; Possani et al., 1992; Lourenço et al., 1996; Soares et al., 2002). *T. serrulatus* tem hábitos noturnos, são pouco agressivos e só atacam animais maiores e pessoas para se defender, quando se sentem ameaçados. Vivem em locais úmidos e escuros, tais como pilhas de madeiras, entulhos, pedreiras, barrancos, construções antigas, serrarias e olarias; podem se esconder em roupas e sapatos. Alimentam-se de insetos, principalmente baratas. Podem atingir até sete centímetros de comprimento. O corpo é dividido em três partes: cefalotórax (não há



**Figura 1** – Exemplar do escorpião *Tityus serrulatus*, o escorpião-amarelo. (Foto: Marina Farcic Mineo)

uma cabeça distinta), abdômen segmentado marrom-escuro e cauda segmentada, de cor amarelada, em cuja extremidade há uma vesícula ou télson que contém duas glândulas produtoras de veneno e o agulhão ou ferrão, o órgão inoculador do veneno. A cauda apresenta, ainda, serrilha dorsal no terceiro e quarto segmentos, geralmente mais nítida no quarto (daí o nome *serrulatus*) e mancha escura no lado ventral da vesícula. Tem exoesqueleto de quitina resistente, característico dos artrópodes, assim como oito patas articuladas, de cor amarelada; têm, ainda, um par de pedipalpos, que atuam como braços, e quelíceras, próximas à boca, que são como pinças. O maior período de atividade e reprodução é o verão, época chuvosa. São ovovivíparos e a fêmea de *T. serrulatus* faz partenogênese, ou seja, não precisa de macho para a reprodução. Vivem de três a cinco anos e uma fêmea pode ter quatro ou mais parições e gerar até 90 filhotes na vida reprodutiva (Lourenço et al., 1996; Ministério da Saúde, 2001; Melo et al., 2004b).

## 2.2 – Epidemiologia

O escorpionismo desponta, no Brasil, como um dos maiores problemas de saúde pública. Os acidentes podem assumir perfil epidemiológico grave em certas áreas e sob certas condições. Além do clima tropical e de estações chuvosas, os escorpiões têm a seu favor o fator da alta adaptabilidade. De fato, são muito adaptados ao ambiente urbano, onde têm alimentação farta e não têm os competidores que teria no meio silvestre, tais como macaco, quati, seriema e sapo (Bürcherl, 1969; Soares et al., 2002).

Em 1988 foi implantado pelo Ministério da Saúde o Programa Nacional de Controle dos Acidentes por Animais Peçonhentos e, a partir daí, passou-se a notificar os acidentes escorpiônicos no Brasil. Assim, têm aumentado significativamente o número de casos notificados. Os dados do Ministério da Saúde indicam que ocorrem cerca de 8000 acidentes por ano, no Brasil, com coeficiente de incidência de três casos para cada 100.000 habitantes (Ministério da Saúde, 2001). Cerca de 50% dos acidentes são diagnosticados nos estados de Minas Gerais e São Paulo, mas têm-se registrado aumento de notificações provenientes da Bahia, Rio Grande do Norte, Alagoas e Ceará (Ministério da Saúde, 2001; Soares et al., 2002, Cupo et al., 2003). Cardoso et al., (1995) levantaram 10.000 acidentes escorpiônicos notificados entre os anos de 1990 e 1993 em todo o Brasil e determinaram taxa de mortalidade em 1,1%. No Hospital Municipal de Santarém, Pará, 72 pessoas foram socorridas após acidentes com escorpiões, de fevereiro de 2000 a fevereiro de 2001, sendo que em 8,3% dos casos o escorpião causador foi levado ao Hospital e a espécie identificada foi *T. cambridgeis*, a mais comum da Amazônia; nenhum caso resultou em óbito (Pardal et al., 2003). No estado da Bahia, Lira-da-Silva et al. (2000) encontraram 237 casos atendidos pelo Centro de Informações

Antiveneno da Bahia (CIAVE), entre 1982 e 1995, dos quais 50% foram acidentes causados por *T. stigmurus*; esses acidentes se assemelham muito aos causados por *T. serrulatus*, exceto por não terem sido registrados óbitos nem complicações sistêmicas graves. Na Região de Ribeirão Preto, o Hospital das Clínicas de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, atendeu 9228 pacientes entre 1982 e 2000, notando-se nítido aumento nos últimos anos, à custa da espécie *T. serrulatus* (75,2% dos casos), com média de 700 a 800 casos por ano e 2 a 3 casos por dia. A espécie *T. bahiensis* esteve envolvida em 9,5% desses acidentes (Cupo et al., 2003). Bucarechi et al. (1995) registraram o atendimento de 239 pacientes com idade inferior a 15 anos, de janeiro de 1984 a maio de 1994, no Hospital das Clínicas da Universidade Estadual de Campinas, São Paulo, sendo que 84,9% dos escorpiões causadores eram *T. bahiensis*.

Em Minas Gerais, 3% dos quadros clínicos são considerados de alta gravidade, o que contribui para a baixa letalidade dos acidentes escorpiônicos (Soares et al., 2002). Em Ituiutaba, região do Triângulo Mineiro (MG), escorpiões da espécie *T. fasciolatus* foram recentemente identificados e vem sendo capturados pelo Centro de Controle de Zoonoses (CCZ)<sup>1</sup> e segundo dados desse Centro, ocorreram 158 acidentes escorpiônicos no período de 1995 a 1997, cujos casos foram atendidos no Hospital Municipal. Ao contrário do que se observa em outros dados de regiões tropicais, os acidentes ocorreram em maior número na seca, contudo, não foram pesquisadas as espécies de escorpião envolvidas nesses acidentes (Plazzi et al., 2000). Em Uberlândia, na mesma região, *T. serrulatus* é o escorpião mais predominante, tendo sido identificado em 67,5% dos focos localizados para captura, segundo o Departamento de

<sup>1</sup> Comunicação Pessoal. Maria Izabel Plazzi. Centro de Controle de Zoonoses de Ituiutaba, MG

Saúde de Uberlândia (1984-1996), o qual registrou nessa cidade, também, a ocorrência de *T. bahiensis*, *T. matogrossensis* e *Bothriurus araguayae* (Stutz, 2000). Em Montes Claros, no Norte do estado, 325 prontuários de pacientes com idades de dois meses a 15 anos (1996-2005) foram analisados e revelaram que 29,8% dos casos foram classificados como graves, além de ter sido alto o período médio de hospitalização (2,3 dias) e o tempo médio entre o acidente e o atendimento médico (3h); a letalidade observada foi considerada alta, de 1,5% (Horta et al., 2007).

O Hospital de Pronto Socorro João XXIII, em Belo Horizonte foi pioneiro na admissão em Unidade de Terapia Intensiva (UTI) de pacientes com alto risco ou instabilidade fisiológica sistêmica, conforme apresentado no Congresso Internacional de Toxinologia em Uppsala, Suécia em 1979. Entre 1972 e 1978, foram atendidos 1173 pacientes, dos quais 323 eram crianças com menos de dois anos e 40 destas deram entrada em UTI, com continua avaliação eletrocardiográfica; três pacientes morreram, o que representou 0,26% (Campos et al., 1979; Freire-Maia e Campos, 1987). Já entre 1990 e 1997, segundo um trabalho de Soares et al. (2002), 3265 pessoas foram atendidas no Centro de Toxicologia do Hospital de Pronto Socorro João XXXIII. Os dados desse trabalho mostraram que o maior número de atendimentos aconteceu de outubro a março, os meses mais chuvosos do ano. Do total de pacientes acidentados, 552,% eram homens; de fato, estão mais sujeitos a serem ferroados aqueles que trabalham em serrarias, depósitos de madeiras, olarias, pedreiras, marmorarias e os que lidam com remoção de terras. Ataques em membros superiores ocorreram em 48,4% dos casos e nos inferiores, em 40,1%. A faixa etária mais atingida foi a de 25 a 65 anos (faixa usada nos prontuários do hospital); os acidentes com crianças e idosos, os mais susceptíveis ao veneno do escorpião, foram bem menos frequentes: 20% e 4,2%,

respectivamente. Dados recentes de Campolina (2006) mostram que no ano de 2003, no estado de Minas Gerais, foram notificados 6224 casos com 25 óbitos, sendo a maioria absoluta dos acidentes causada por *T. serrulatus*; a letalidade chegou a 3%, na faixa etária de zero a quatro anos, superior à média nacional de 0,28% (Rezende et al., 1998). Em 2003, em Belo Horizonte ocorreram 1104 casos, com três óbitos, atendidos no Serviço de Toxicologia do Hospital João XXIII. Em 2004, 5780 atendimentos foram realizados diretamente pelo Serviço de Toxicologia, dos quais 1583 (27,3%) foram devidos a acidentes por animais peçonhentos (escorpiões, lagartas, abelhas, serpentes, aranhas, vespas, marimbondos e formigas). A maior parte desses acidentes foi causada por escorpiões: 942 casos ou 59,5%. Outros 201 casos foram atendidos pelo serviço de orientações pelo telefone. O escorpião causador foi identificado em 445 casos, dos quais 99,1% eram *T. serrulatus*. Em 98,1% dos casos os pacientes apresentaram manifestações locais e em 17%, manifestações sistêmicas. Não ocorreram óbitos entre os atendimentos presenciais no Hospital, mas houve três óbitos registrados entre os atendimentos por telefone, oriundos de cidades do interior do estado (Campolina, 2006).

Os dados epidemiológicos acerca de acidentes escorpiônicos em Medicina Veterinária não existem a não ser pela presença de um relato de caso na literatura, envolvendo um animal de estimação (Cardoso et al. (2004).

### 2.3 – O veneno dos escorpiões

O veneno de escorpiões é caracterizado pela variedade e complexidade de toxinas, sendo que apenas na família *Buthidae* há espécies que produzem neurotoxinas. O número total de toxinas produzidas por escorpiões é estimado em 100.000, das quais, apenas 1%

é conhecido. A composição química individual do veneno de cada espécie, no entanto, não é tão complexa quanto à de venenos de serpentes, por exemplo. É composto basicamente por proteínas de baixo peso molecular com cadeias curtas de aminoácidos, mucopolissacarídeos, pequena quantidade de hialuronidases e neurotoxinas, sem atividade hemolítica, proteolítica, colinesterásica, fosfolipásica e fibrinogenolítica (Couraud e Jover, 1984; Cupo et al., 2003; Gazarian et al., 2005).

As toxinas de escorpiões são classificadas em quatro famílias, conforme sua especificidade a cada um dos seguintes canais iônicos de membranas celulares: canais de sódio ( $\text{Na}^+$ ), de potássio ( $\text{K}^+$ ), de cloro ( $\text{Cl}^-$ ) e de cálcio ( $\text{Ca}^{++}$ ), sendo as de canais de sódio e potássio as mais estudadas. As toxinas de canais de  $\text{Na}^+$  conhecidas têm mais resíduos de aminoácidos em sua estrutura (60-76) se comparadas às toxinas de canais de  $\text{K}^+$  e  $\text{Cl}^-$  (22-47), mas todas elas têm em comum a estabilização por pontes dissulfeto (Becerril et al., 1997; Gazarian et al., 2005; Vega e Possani, 2005; Zhijian et al., 2006). Em geral, as toxinas de canais de  $\text{K}^+$  e  $\text{Cl}^-$  são descritas como bloqueadoras, enquanto as de canal de  $\text{Na}^+$  são moduladoras (Batista et al., 2000; Gazarian et al., 2005). Há toxinas específicas para organismos mamíferos, as quais foram as primeiras a serem identificadas, devido à sua importância patológica, porém, certas toxinas atuam especificamente em canais iônicos de insetos ou crustáceos (Couraud e Jover, 1984; Wagner et al., 2003; Gazarian et al., 2005; Vega e Possani, 2005). O caráter evolutivo da produção de toxinas por escorpiões é marcante, principalmente quando se analisam as características dos genes que codificam para essas proteínas: são muito móveis, oriundos de mutações pontuais, duplicação de genes e recombinações (Gazarian et al., 2005; Zhijian et al., 2006).



As toxinas escorpiônicas são classificadas, ainda, de acordo com a especificidade por sítios específicos na estrutura do canal de sódio de vertebrados. Há quatro sítios na molécula protéica do canal de sódio, determinados em estudos com diversas neurotoxinas, conduzidos por Catterall, (1980) e Couraud et al., (1982), citados por Couraud e Jover, (1984). O sítio 1 reconhece tetrodotoxina e saxitoxina, cujo efeito é inibição específica da permeabilidade ao sódio. Ao sítio 2 ligam-se batracotoxina, veratridina, aconitina e graianotoxina, que causam mudança na dependência de voltagem de ativação e inibição de inativação, resultando em ativação anormal dos canais de sódio durante o potencial de repouso da membrana. Os sítios 3 e 4 reconhecem as neurotoxinas escorpiônicas, as quais são diferenciadas em alfa ( $\alpha$ ) e beta ( $\beta$ ). As  $\alpha$ -toxinas, que se ligam ao sítio 3 do canal de sódio, são voltagem-dependente, diferente das  $\beta$ -toxinas, cuja ligação específica ao sítio 4 independe do potencial de membrana. Alfa-toxinas induzem o prolongamento da fase de repolarização do potencial de ação, enquanto as  $\beta$ -toxinas mudam o limiar de ativação do canal para potenciais mais negativos, interferindo, assim, no fechamento do canal durante a repolarização, causando repetidos potenciais de ação após uma única estimulação. Os gêneros de escorpiões *Androctonus* e *Leiurus*, presentes no Velho Mundo, produzem, via de regra, as  $\alpha$ -toxinas, enquanto o gênero *Centruroides* produz toxinas do tipo  $\beta$ . O gênero *Tityus*, no entanto, produz os dois tipos de toxinas (Couraud e Jover, 1984; Polikarpov et al., 1999; Gonçalves et al., 2003; Wagner et al., 2003; Mendes et al., 2004; Gazarian et al., 2005; Zhijian et al., 2006).

Apesar do número conhecido de toxinas de escorpiões ser baixo, estudos de letalidade em camundongos mostraram que os venenos produzidos pelo gênero *Tityus* apresentam diferentes valores de  $DL_{50}$  em camundongos.

Assim, a  $DL_{50}$  do veneno de *T. stigmurus* foi determinada em 0,773mg/kg; do *T. bahiensis* em 1,062mg/kg; do *T. serrulatus* em 1,160mg/kg; do *T. fasciolatus*, 3,646mg/kg e *T. cambridgeis*, 12,136mg/kg (Nishigawa et al., 1994; Wagner et al., 2003). Comparados com outros escorpiões do mundo, os venenos dessas espécies são menos tóxicos, podendo-se citar as  $DL_{50}$  de *Androctonus crassicauda*, 0,06mg/kg; *Leiurus quinquestriatus*, 0,125mg/kg; *Centruroides noxius*, 0,25mg/kg e *Buthus australis*, 0,4mg/kg (Hassan, 1984).

Kalapothakis e Chávez-Olórtegui (1997) encontraram grande variabilidade na composição do veneno de 23 diferentes espécimes de *T. serrulatus*, capturados em Belo Horizonte, bem como quando de diferentes extrações de um mesmo indivíduo. Os resultados obtidos por meio do teste imunológico *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* (ELISA) mostraram concentrações variáveis de  $\alpha$  e  $\beta$  toxinas, que reagiram com anticorpos específicos (monoclonais), e componentes protéicos que se ligam a anticorpos produzidos com o veneno completo. Foi verificada maior concentração de  $\alpha$ -toxinas nas primeiras extrações, logo que o escorpião foi capturado, ao passo que o veneno extraído 40 dias depois apresentou maior concentração de  $\beta$ -toxinas. Os venenos com maior concentração de  $\alpha$ -toxinas também apresentaram maior letalidade. Esses resultados ressaltaram, mais uma vez, a importância de se usar *pools* de venenos de vários indivíduos de uma mesma região para sua utilização em pesquisas e produção de anti-venenos devido às diferenças individuais e geográficas entre animais de uma mesma espécie.

Parâmetros farmacocinéticos do veneno de *T. serrulatus* determinados por ELISA após injeção subcutânea em ratos mostraram: (1) que a absorção do veneno do tecido subcutâneo para o compartimento central é rápida; (2) que a distribuição para os tecidos

é rápida, sendo de 30 minutos a meia-vida de distribuição ( $t_{1/2\alpha}$ ); (3) que a afinidade por tecidos é alta, já que a velocidade de distribuição do compartimento central para os tecidos foi 28 vezes maior que na direção oposta e (4) que a excreção é lenta, observando-se que a meia-vida de eliminação ( $t_{1/2\beta}$ ) é 5,5 vezes maior que a meia-vida de distribuição (Santana et al., 1996). Hialuronidases, componentes não tóxicos do veneno de *T. serrulatus*, podem contribuir para a rápida absorção e difusão do veneno através dos tecidos, podendo, até mesmo, restringir a eficácia da soroterapia (Pessini et al., 2001). Revelo et al., (1996) também utilizaram ELISA em estudo semelhante, analisando a distribuição corporal do veneno de *T. serrulatus* injetado por via subcutânea em camundongos. O veneno foi absorvido do sítio de inoculação em 2h, alcançou os níveis máximos de concentração no plasma, pulmões, coração e baço em 30 min e nos rins e no fígado em 15 min. Não foi encontrado veneno no sistema nervoso central. Nunan et al., (2003, 2004) mostraram que há diferenças de valores farmacocinéticos entre ratos jovens (21-22 dias) e adultos (150-160 dias). Usando titiustoxina (TsTX ou toxina gama), do veneno de *T. serrulatus* marcada com tecnécio foi mostrado, por cintilografia, que ratos jovens têm absorção e distribuição pelos tecidos (coração, tireóide, pulmões, baço, rins e fígado) mais altas e mais rápidas, porém, eliminação mais lenta, enquanto a concentração da toxina no cérebro, cinco minutos após a aplicação, era 17 vezes maior nos jovens que nos adultos. Esses resultados explicaram, em parte, a maior vulnerabilidade de crianças frente ao veneno escorpiônico, que é também relatada em inúmeros casos clínicos (Ismail e Abd-Elsalam, 1988; El-Amin, 1992; Cupo et al., 1994; Bucarechi et al., 1995; Ismail, 1995; Cupo e Hering, 2002; Cupo et al., 2003).

## 2.4 – Efeitos clínicos

O principal efeito da interferência das toxinas escorpiônicas sobre canais iônicos é a liberação excessiva de neurotransmissores, sobretudo acetilcolina e noradrenalina por neurônios na membrana pós-sináptica, e adrenalina, diretamente na circulação sanguínea, pela medula da glândula adrenal (Freire-Maia e Ferreira, 1961; Henriques et al., 1968; Ismail e Abd-Elsalam, 1988; Ismail, 1995; Cupo et al., 2003; Ouanes-Besbes et al., 2005). Outros neurotransmissores como dopamina e ácido gama-aminobutírico (GABA) foram estudados por Dorce e Sandoval (1994) e sua liberação no cérebro de ratos após injeção de veneno de *T. serrulatus* causou alterações comportamentais e convulsivas. Nouira et al. (2005) analisaram a forte relação entre liberação de catecolaminas e hipertensão de cães, causadas pelo veneno de *Androctonus australis hector*, com a participação de neuropeptídeo Y e endotelina 1. Células não-excitáveis, tais como fibroblastos pulmonares e dérmicos e células pancreáticas têm sítios de receptores para neurotoxinas, inclusive as escorpiônicas (Couraud e Jover, 1984; Fletcher et al., 1996).

O envenenamento e o prognóstico dependem de uma série de fatores: espécie de escorpião, condições do tétson e do ferrão no momento do acidente, número de ferroadas, quantidade de veneno injetado, idade, peso e saúde da vítima e presença de doenças concomitantes, como cardiopatias, diabetes e hipertensão (Dehesa-Dávila e Possani, 1994.). Os efeitos clínicos dos venenos de escorpiões podem ser locais ou sistêmicos. Como os neurotransmissores atuam em todos os sistemas, os sinais podem ser muito variáveis dependendo, basicamente, da predominância dos efeitos adrenérgicos ou colinérgicos. Geralmente, segundo a experiência médica, efeitos parassimpáticos do veneno durante a fase inicial do envenenamento raramente

dominam o quadro clínico (Gueron et al., 1993). Os quadros clínicos são classificados em leve, moderado ou grave, sendo que as manifestações sistêmicas, principalmente alterações hemodinâmicas e cardiovasculares, com falência cardíaca e edema pulmonar, determinam a gravidade. Os sinais que podem ser citados são muitos e conforme a evolução da gravidade do quadro clínico: dor local, sudorese, piloereção, salivação excessiva, sialorréia, náuseas, vômitos, desidratação, dor abdominal, palidez, diarreia, taqui e bradicardia, dispnéia, perturbação, agitação, sonolência, prostração, espasmos musculares, hipertensão, edema pulmonar, arritmias cardíacas, falência cardíaca, tremores, convulsões, choque (Campos et al., 1979; Gueron e Ovsyshcher, 1987; Ismail e Abd-Elsalam, 1988; Bawascar e Bawascar, 1994; Cupo et al., 1994; Freire-Maia et al., 1994; Bucaretschi et al., 1995; Ismail, 1995; Rezende et al., 1998; Cupo e Hering, 2002; Cupo et al., 2003). A maior parte da literatura consultada enfatiza os efeitos clínicos observados em acidentes com escorpiões do velho mundo, como os dos gêneros *Leiurus*, *Androctonus* e *Buthus*. Porém, as manifestações cardiovasculares são os principais sinais clínicos graves igualmente relatados pela literatura científica latino-americana acerca dos acidentes causados pelo gênero *Tityus*.

A dor no local picado pelo escorpião é o sinal mais comum, predominante no escorpionismo humano em praticamente 100% dos acidentes. É progressiva e depende da quantidade de veneno inoculada e da sensibilidade individual do acidentado. Ocorre imediatamente após o acidente. Pode ser discreta, restrita ao local de inoculação do veneno, ou insuportável, manifestada na forma de ardor, queimação, agulhada ou ferroadada, acompanhada ou não de hiperestesia. Pode irradiar-se até a raiz do membro atingido, exacerbando-se à palpação. Algumas vezes, apesar de sentir e identificar a picada, o paciente não sente a

dor, tal qual é relatada, provavelmente por deficiência na inoculação do veneno ou por falta de veneno no momento da inoculação, consumido antes na captura de uma presa. O local da picada é, às vezes, detectado com dificuldade, podendo-se encontrar hiperemia e edema discretos, acompanhados ou não de sudorese e piloereção local (Ismail e Abd-Elsalam, 1988; Bucaretschi et al., 1995; Ismail, 1995; Rezende et al., 1996; Cupo e Hering, 2002; Soares et al., 2002; Cupo et al., 2003; Melo et al., 2004b; Campolina, 2006). Em cães, já foram relatados os mesmos sinais de dor, causados pelo veneno de *Tityus* sp., com destaque para hipersensibilidade em membros afetados, discreto edema local, e, ainda, manifestações de vocalização e agressividade do animal (Cardoso et al., 2004; Cordeiro et al., 2006; Labarrère et al., 2007; Merlo et al., 2007).

Uma investigação farmacológica da resposta nociceptiva e da indução de edema pelo veneno de *T. serrulatus* em ratos e camundongos, conduzida por Nascimento Júnior et al. (2005), mostrou como determinadas concentrações de veneno induzem dor e edema locais e os efeitos de diferentes grupos de drogas. Esse estudo investigou tanto *nocicepção*, conceito definido como um estímulo nódico que dá surgimento a sensação intensa e desagradável de dor aguda, quanto *alodinia*, dor crônica evocada por estímulo não-nódico (Rang et al., 2004). Embora os resultados sejam limitados quanto ao estabelecimento de paralelos entre a experiência de dor humana e a manifestação de dor em animais experimentais, concluiu-se que o veneno de *T. serrulatus* causou alodinia térmica e mecânica ipsilateral após injeção intraplantar, qualitativamente diferente da experiência humana, que registra alodinia de larga distribuição, alcançando órgãos distantes do local da picada. O comportamento nociceptivo dos animais foi manifestado por lambidas e mordidas no membro onde foi aplicado o veneno, demarcadamente nos primeiros 15

minutos, enquanto o edema localizado instalou-se rapidamente e permaneceu por uma hora. Há suspeitas de que a resposta nociceptiva imediata tenha sido influenciada pela atuação das toxinas neurotóxicas e de eicosanóides endógenos sobre fibras aferentes nociceptivas primárias. Tratamentos com drogas antagonistas de aminas biogênicas, tais como histamina e 5-hidroxitriptamina (5-HT ou serotonina), que foram identificadas como constituintes do veneno, mas também têm origem endógena, inibiram as respostas nociceptivas e o edema, fazendo-se supor uma ampla participação desses mediadores nesses processos.

Embora o trabalho de Nascimento Júnior et al., (2005) descarte a atuação de citocinas inflamatórias nos processos algésicos locais, devido à rapidez com que eles se instalam, trabalhos mais recentes sobre escorpionismo têm dado amplo destaque para esses mediadores e têm gerado discussões sobre os mecanismos patofisiológicos da SEE. Há suspeitas de que parte dos efeitos do veneno escorpiônico seja atribuída a liberação de mediadores inflamatórios, já que foi relatada a ocorrência de síndrome de resposta inflamatória sistêmica, edema pulmonar e até morte em pacientes reincidentes e já tratados com anticorpos contra veneno escorpiônico (Fukuhara et al., 2004). Sofer et al. (1996) encontraram níveis muito elevados, quase oito vezes acima do normal, de interleucina 6 (IL-6) no plasma de crianças acidentadas por *Leiurus quinquestriatus hebreus* e *Buthotus judaicus*, em Israel. Meki e El-dean (1998) fizeram um trabalho semelhante no Egito e observaram níveis elevados de IL-6, IL-1 $\beta$ , óxido nítrico (NO), um importante modulador farmacológico e antitripsina  $\alpha$ -1, uma proteína de fase aguda (globulina) produzida pelo fígado em quadros inflamatórios. Essas interleucinas estão diretamente relacionadas com resposta pró-inflamatória e indução de liberação de outras citocinas. Fatani et al., (1998) investigaram a

participação de cininas no envenenamento de coelhos por *L. quinquestriatus* e também encontraram alta correlação entre a sua concentração plasmática e a ocorrência de alterações cardiovasculares. O escorpião venezuelano *T. discrepans* também causou aumento de IL-6 em paciente humanos e foi encontrada alta correlação com os níveis de amilase pancreática após o acidente (D'Suze et al., 2003). Em trabalhos semelhantes ao anterior, porém envolvendo acidentes com *T. serrulatus*, Magalhães et al., (1999) e Fukuhara et al., (2003) registraram o aumento plasmático de IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8, fator de necrose tumoral (TNF- $\alpha$ ), interferon- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) e fator estimulador de colônias de granulócitos e monócitos (GM-CSF) em pacientes com quadros graves. Em trabalhos experimentais com *T. serrulatus*, Petricevich et al., (2007) constataram a estimulação de produção de citocinas por macrófagos, *in vitro*, promovida pela toxina Ts1 (toxina  $\gamma$ ) isolada. Fukuhara et al., (2004) avaliaram os níveis de cininas em pacientes humanos acidentados por *T. serrulatus*, coincidindo os maiores níveis com os quadros mais graves. As cininas, como a bradicinina, também causam dor local, vasodilatação, aumento da permeabilidade vascular, promovem a migração de polimorfonucleares e a liberação de citocinas, prostaglandinas e leucotrienos. A bradicinina foi relatada por Freire-Maia e Campos (1987) como possível causadora de edemas pulmonares de origem não-cardiogênica no envenenamento escorpiônico. A participação de bradicinina, NO e IL-1 foi também constatada experimentalmente por Pessini et al (2006) na indução de febre em ratos inoculados com veneno de *T. serrulatus* por via intraperitonal, mostrando-se esses mediadores os mais importantes na resposta febril da SEE. Os mecanismos exatos dos mediadores inflamatórios e farmacológicos no envenenamento escorpiônico não estão definidos a contento, mas tais resultados lhes dão lugar de destaque e poderão explicar, conjuntamente à liberação de

neurotransmissores, muitos sinais clínicos causados pelo veneno de escorpião e auxiliar a terapêutica da SEE.

Leucocitose com neutrofilia é uma alteração muito comum, registrada em muitos casos clínicos humanos de envenenamento escorpiônico (Gueron et al., 1967; Bucarechi et al., 1995; Cupo e Hering, 2002; Melo et al., 2004b) e também em cães (Cordeiro et al., 2006; Labarrère et al., 2007). Embora sejam relatadas reações inflamatórias decorrentes do envenenamento escorpiônico, como miocardite e pancreatite e a vasta participação de citocinas e mediadores inflamatórios, o mecanismo mais provável da leucocitose é o estresse causado pela dor, que maximiza a descarga de adrenalina e provoca leucocitose fisiológica devido ao desprendimento de leucócitos do *pool* marginal dos vasos sanguíneos (Jain, 1993; Cordeiro et al., 2006; Labarrère et al., 2007).

Hiperglicemia é o efeito metabólico do envenenamento escorpiônico mais importante e relacionado a diversas espécies de escorpiões. Os mecanismos da hiperglicemia são multifatoriais, incluindo os efeitos dos neurotransmissores sobre fígado, pâncreas e tecido adiposo e a liberação de hormônios. Catecolaminas agem no fígado ativando a adenililciclase, levando à formação de AMPc (adenosina mono-fosfato cíclico), com subsequente glicogenólise, enquanto efeito lipolítico causa liberação de ácidos graxos livres e aumento de aminoácidos precursores de gliconeogênese, tais como leucina, isoleucina e valina. Os efeitos do veneno sobre o pâncreas podem tanto causar lesões, que degeneram ilhotas pancreáticas, quanto influenciar, farmacologicamente, por meio de catecolaminas, a produção de hormônios, pois já foi relatado inibição da liberação de insulina e estímulo de secreção de glucagon (El-Asmar, 1984; Ismail e Abd-Elsalam, 1988; Murthy e Hase, 1994; Murthy e Haghazari, 1999; Yugandar et al., 1999). O

veneno do escorpião indiano *Mesobuthus tamulus concanensis* causou, experimentalmente, em cães, hiperglicemia, aumento dos níveis de glucagon e elevação de mais de 200% nos níveis de cortisol, concluindo-se que norepinefrina liberada pelas terminações nervosas e glicocorticóides mediam os efeitos de gliconeogênese e glicogenólise conseqüentes do envenenamento escorpiônico (Murthy e Haghazari, 1999). Contudo, Sankaran et al. (1983), induziram experimentalmente a secreção pancreática de insulina *in vivo* em cães e *in vitro* em ratos, usando veneno de *T. trinitatis*; essas secreções foram inibidas por atropina, o que revelou a participação de receptores colinérgicos muscarínicos na estimulação. Diversos relatos de acidentes escorpiônicos no Brasil incluem entre os achados laboratoriais a hiperglicemia, em quadros clínicos moderados e graves. Os níveis plasmáticos de glicose, que são normais até 110mg/dl, variaram de 249 entre 357mg/dl entre oito pacientes, com quadro clínico grave, atendidos por Cupo e Hering, (2002). Num caso extremo, Bucarechi et al. (1995) relataram em uma criança nível de glicemia de 576mg/dl.

O trato gastrointestinal é afetado na SEE pelo aumento de motilidade e de secreções, principalmente suco gástrico. Manifestam-se sinais clínicos agudos muito evidentes que levam à desidratação e desequilíbrio hidroeletrólítico, como sialorréia, náuseas, vômitos e, menos comumente, diarreias. As náuseas e os vômitos, quando abundantes, estão intimamente relacionados à gravidade do envenenamento. A contração de canalículos esplênicos, muito provavelmente por ação adrenérgica, aliada ao aumento de motilidade intestinal causam dor abdominal, associada ou não à distensão da parede, simulando quadro de abdome agudo (Freire-Maia et al., 1994; Cupo et al., 2003; Melo et al., 2004b). A liberação de acetilcolina pelas terminações nervosas e de histamina por células enterocromafins-símile da mucosa gástrica são os principais estímulos para o

aumento de secreções gastrintestinais, o que foi confirmado por meio do bloqueio parcial desses efeitos com atropina e antagonistas de receptores H<sub>2</sub> de histamina, como cimetidina, em ratos envenenados com toxinas purificadas do veneno de *T. serrulatus* (Gonzaga et al., 1979; Cunha-Melo et al., 1983; Melo et al., 2006). A participação de gastrina no aumento da secreção gástrica de ratos estimulada pela toxina T<sub>1</sub> isolada do veneno de *T. serrulatus* foi comprovada por Toppa et al. (1998), cujos resultados de pesquisa mostraram, nos primeiros 60 minutos após o envenenamento, elevação nos níveis séricos de gastrina, bem como aumento na produção de ácido clorídrico e pepsina e do volume total de suco gástrico.

A dor abdominal em muitos casos pode ser também atribuída à ação tóxica do veneno escorpiônico sobre o pâncreas. Atribui-se essa sintomatologia ao estímulo parassimpático da acetilcolina, que aumenta a sua secreção exócrina, tanto que em casos moderados e graves os envenenados têm níveis plasmáticos aumentados de amilase pancreática (Bartholomew, 1970; Sofer et al., 1991; Bucarechi et al., 1995; Cupo et al., 2003; Melo et al., 2004b). Novaes et al. (1982) induziram aumento no fluxo pancreático de ratos vagotomizados com injeção de titiustoxina purificada, indicando tal resultado que o bloqueio vagal não pôde impedir os efeitos do veneno sobre o pâncreas. Fletcher et al. (1996), usando venenos de escorpiões do gênero *Tityus* mostrou que o estímulo à secreção de células acinares pancreáticas de cobaias depende da abertura de canais de Na<sup>+</sup> sensíveis a neurotoxinas, assim como acontece nos neurônios. Machado e Silveira Filho (1976/1977) induziram pancreatite hemorrágica em cães aplicando doses letais e sub-letais de veneno total de *T. serrulatus* por via intravenosa. Possani et al., (1992) observaram o efeito secretagogo do veneno de *T. serrulatus* sobre o pâncreas de cobaias, *in vitro*, e caracterizaram microscopicamente

a depleção de grânulos zimógenos de células acinares pancreáticas de cães, eliminados após o estímulo do veneno, *in vivo*. Em ratos, veneno de *T. serrulatus* causou pancreatite aguda até 48h após a injeção intravenosa e pancreatite crônica até 20 dias após o envenenamento, sendo os achados histopatológicos mais importantes: degranulação, vacuolização acinar, infiltração difusa de leucócitos, lesões granulomatosas, dilatação e hiperplasia ductal, hiperplasia de linfonodos peripancreáticos e mobilização e degranulação de mastócitos (Novaes et al., 2002).

Doses sub-letais de veneno de *T. serrulatus* causaram congestão e hemorragia renais em ratos (Corrêa et al., 1997), porém não foi concluído se tais achados foram decorrentes de efeito nefrotóxico do veneno, ou secundário à liberação de neurotransmissores ou, ainda, se devido a resposta inflamatória aguda. Alves et al. (2005), induziram com veneno de *T. serrulatus*, em ratos, aumento da pressão de perfusão e da resistência vascular renais, diminuição da taxa de filtração glomerular e do fluxo urinário, deposição de proteína nos túbulos renais e edema renal devido a aumento na pressão hidrostática. Esses resultados foram creditados ao efeito vasoconstritor das catecolaminas, que atuaram, sobretudo, nos receptores renais adrenérgicos  $\alpha$ -1 arteriolares.

Em função da atuação multissistêmica do veneno escorpiônico, ocorre desequilíbrio hidroeletrólítico nos casos mais graves. As perdas hídricas por vômitos e diarreia levam a desidratação, enquanto as afecções respiratórias e gastrintestinais influenciam a alteração de níveis plasmáticos de íons e no balanço ácido-básico (Guéron e Sofer, 1994; Cupo et al., 2003; Melo et al., 2004b). Venenos de diversas espécies de escorpiões causam, via de regra, hipercalemia, hiponatremia, hipocalcemia e hipomagnesemia e têm sido propostos vários

motivos para isso: (1) a alteração na permeabilidade celular, evocada por interferência nos canais iônicos, é relacionada, primeiramente, como mecanismo direto do veneno que diminui os níveis plasmáticos de sódio e aumenta os de potássio; (2) a acidose metabólica estimula mecanismo compensatório renal que aumenta a excreção de íons hidrogênio a custa da retenção de potássio; (3) as catecolaminas aumentam o efluxo de potássio do fígado; (4) a inibição de insulina aumenta os níveis de potássio, pois sabe-se que esse hormônio aumenta a entrada de potássio no músculo esquelético e nos hepatócitos; (5) há diminuição de cálcio por diminuição na absorção intestinal e/ou aumento de excreção renal ou secundariamente à deposição no miocárdio (El-Asmar, 1984; Ismail et al., 1995, Guyton, 1996). Porém, as perdas de eletrólitos causadas por vômitos, diarreia e sialorréia podem controverter os mecanismos homeostáticos do organismo, pelo que a experiência médica registra hipocalemia freqüentemente (Cupo et al., 1994, 2003; Bucarechi et al., 1995). A acidose metabólica se instala devido a distúrbios respiratórios, principalmente os dispnéicos e a hipóxia tissular, a qual pode ser causada pela vasoconstrição adrenérgica ou por diminuição de débito cardíaco, tendo como consequência o aumento na produção de ácido láctico (El-Asmar, 1984; Magalhães et al., 2000; Andrade et al., 2004). Posteriormente aos efeitos gastrintestinais do veneno, no entanto, o excesso de secreção ácida do estômago pode causar alcalose metabólica (El-Asmar, 1984; Melo et al., 2004b).

Magalhães et al. (2000) e Andrade et al. (2004) estudaram a influência de toxina isolada (Ts1 - toxina  $\gamma$ ) do veneno de *T. serrulatus* sobre o equilíbrio hidroeletrólítico e ácido-básico de ratos anestesiados durante 60 minutos. Os resultados mostraram diminuição no pH e aumento de ácido láctico sangüíneos,

hiperosmolaridade do plasma, hipercalemia, hiperglicemia e aumento no hematócrito. Os resultados apareceram muito rapidamente, assim como os mecanismos compensatórios frente à acidose, como aumento e manutenção na concentração de bicarbonato. A diferença básica entre esses dois trabalhos foi a ventilação mecânica oferecida no segundo experimento, que permitiu que as pressões de O<sub>2</sub> e CO<sub>2</sub> não se alterassem substancialmente, ao passo que sem o suporte na respiração, os ratos tiveram hipercapnia acentuada e hipoxemia, confirmando os efeitos negativos do veneno escorpiônico sobre a perfusão tissular sangüínea. Freire-Maia et al., (1994) ressaltaram que em certos casos de arritmias cardíacas é mais importante reverter os quadros de hipóxia e corrigir os distúrbios ácido-básicos e hidroeletrólíticos do que instituir terapia cardiológica específica.

As alterações cardiovasculares destacam-se entre as mais graves e principais causadoras de morte dentro da SEE. As manifestações são muito óbvias, amplamente descritas na literatura científica e baseiam-se em alterações de pressão arterial, arritmias cardíacas e edema pulmonar (Freire-Maia e Campos, 1987; Gueron e Ovsyshcher, 1987; Ismail e Abd-El salam, 1988; Gueron et al., 1992a, 1992b; Ismail, 1995; Cupo et al., 2003). Em trabalhos pioneiros na descrição detalhada de afecções cardíacas após o acidente escorpiônico, Gueron et al. (1967) e Gueron e Yaron (1970) relataram alterações de ECG e à auscultação cardíaca, grave edema pulmonar com hemoptise, taquicardia, bradicardia, hipotensão em níveis de choque, hipertensão e descreveram, ainda, lesões macro e microscópicas no coração e nos pulmões. A atribuição às catecolaminas dos efeitos cardiovasculares, sobretudo a miocardite, já naquela época foi investigada por meio da dosagem de metabólitos de adrenalina e noradrenalina excretados na urina dos pacientes. Ismail (1995) relacionou, no entanto, várias alterações em ECGs

condizentes com hipercalemia e hipocalcemia. O edema pulmonar, embora amplamente relacionado à falência cardíaca, é também creditado ao efeito de mediadores farmacológicos que causam aumento de permeabilidade (Freire-Maia e Campos, 1987; Gueron e Ovsyshcher, 1987; Fukuhara et al., 2004).

Os efeitos cardíacos advindos da descarga de catecolaminas na SEE, principalmente as lesões, têm sido comparados ao feocromocitoma, tumor de células cromafins da medula da glândula adrenal caracterizado pela autonomia na produção de epinefrina (Ismail, 1995; Faiçal e Shiota, 1997). A semelhança entre lesões, quadro clínico e traçados eletrocardiográficos trazem à tona alguns fatores importantes referentes aos efeitos tóxicos de epinefrina e norepinefrina sobre o miocárdio: (1) intensificação do consumo de oxigênio pelo tecido miocárdico; (2) diminuição da eficiência energética cardíaca – ou seja, porcentagem de conversão de energia oxidativa em trabalho mecânico; (3) hipóxia miocárdica local e acúmulo de ácido láctico, devido ao déficit de oxigênio e à compressão de vasos coronários subendocardiais pelo aumento de pressão intraventricular; (4) tendência em desenvolvimento de hipertrofia miocárdica e degeneração focal; (5) constrição vascular e elevação de pressão e (6) tendência de causar hiperplasia da camada íntima arterial e acelerar a deposição de lipídeos sobre ela (Raab, 1960). O efeito vasoconstritor de angiotensina II já foi investigado como possível causador de lesões no miocárdio, a exemplo das catecolaminas. Gavras et al., (1975) reproduziram lesões miocárdicas em coelhos após a aplicação de angiotensina II e norepinefrina, observaram ausência de lesões em coelhos nefrectomizados, provavelmente por retirar o efeito conversor da renina sobre o angiotensinogênio e, ainda, encontraram os mesmos tipos de lesões em pacientes humanos com quadros de hipertensão arterial.

Murthy e Hase (1994) relacionam a liberação maciça de catecolaminas e angiotensina II e a inibição de insulina como causas de “Síndrome de Déficit de Energia”. Essa síndrome também levaria a lesões no miocárdio, em função dos efeitos das catecolaminas já citados, mas também da ação vasoconstritora da angiotensina II e ao metabolismo catabólico. Além do estímulo à glicogenólise, as catecolaminas aumentam o aporte energético do coração que aliado à hipóxia levam à acidose láctica. Por outro lado, a inibição de insulina e o aumento de glucagon estimulam a lipólise, com liberação de ácidos graxos livres, a qual é agravada pela diminuição das reservas de glicogênio hepáticas. A insulina, por esse motivo, tem sido indicada por esses autores e, associada à glicose, por Yugandar et al., (1999) no tratamento da SEE. O efeito da insulina sobre a mobilização dos ácidos graxos livre é imediato, mais rápido que sobre os níveis de glicose. Bawascar e Bawascar (1994) usaram prazosina, um bloqueador  $\alpha$ -adrenérgico, no tratamento do envenenamento escorpiónico, e creditam o sucesso obtido ao seu efeito vasodilatador e, principalmente, à inibição da supressão da insulina, revertendo as mudanças metabólicas e prevenindo as arritmias cardíacas e a coagulação vascular disseminada causada pela liberação de ácidos graxos livres, fosfolipídeos e radicais livres.

Evidências físicas do dano miocárdico causado pelo veneno de escorpião foram descritas à auscultação pelo pioneiro Gueron (Gueron et al., 1967; Gueron e Yaron, 1970) como “galope protodiastólico passageiro” e “murmúrio pansistólico apical consistente com regurgitação mitral aguda”. As lesões já descritas baseiam-se em degeneração de fibras musculares, necrose local e edema intersticial (Yaron e Braun, 1970; Ismail, 1995); edema intersticial com aumento de celularidade, acúmulo intersticial local de linfócitos, com envolvimento de músculos papilares e áreas subendocardiais (Gueron e



Ovshysher, 1984); áreas de hemorragia recentes e múltiplos focos de cardiomiócitos mostrando miocitólise coagulativa (contração das bandas) e sarcômeros rompidos e hipercontraídos (Cupo et al., 1994; Benvenuti et al., 2002); infiltrado inflamatório de leucócitos polimorfonucleares, histiócitos e linfócitos disperso entre miocardiócitos necróticos e hipereosinofílicos (Daisley et al., 1999). Desde os primeiros trabalhos já se supunha que houvesse um efeito direto das toxinas do veneno sobre o miocárdio. Ismail (1995) citou várias lesões identificadas por microscopia eletrônica que diferem qualitativamente daquelas causadas por superdosagem de catecolaminas, tais como, edema intracelular, dilatação de sistema tubular, destruição de bandas I e deposição de lipídeos, e que, portanto, indicam que a descarga adrenérgica, por si só, não pode explicar as lesões cardiovasculares agudas no envenenamento escorpiónico grave. Embora efeitos diretos das toxinas escorpiónicas ainda não tenham sido revelados, evidência da ação direta do veneno de *T. serrulatus* sobre o músculo cardíaco foi conseguida por Teixeira Júnior et al. (2001). Nesse trabalho foi verificado que o veneno pode induzir contratilidade em corações de ratos pré-tratados com 6-hidroxidopamina, uma droga que lesa seletivamente terminações nervosas simpáticas, demonstrando que pelo menos os efeitos do veneno de *T. serrulatus* sobre coração isolado de rato não depende da liberação de neurotransmissores.

As lesões de miocárdio são identificadas em análises laboratoriais por meio da dosagem sérica de enzimas de origem muscular, tais como aspartato-aminotransferase (AST), lactato-desidrogenase (LDH) e creatinaquinase (CK) e principalmente as isoenzimas LD1 e CK-MB, liberadas especificamente pelo músculo cardíaco lesado. A dosagem de troponina I, uma proteína estrutural do miócito, tem sido utilizada para diagnóstico de lesões

cardíacas, sobretudo infarto agudo do miocárdio. Como as seqüências de aminoácidos dessa proteína diferem entre o músculo cardíaco e o músculo estriado esquelético, ensaios imunológicos baseados em anticorpos contra troponina I cardíaca (cTnI) são de altíssima especificidade e auxiliam no diagnóstico de miocardite, também no envenenamento escorpiónico (Cupo e Hering, 2002; Cupo et al., 2003).

A complexidade da SEE gera divergências entre pesquisadores, sobretudo acerca do sistema cardiovascular. Gueron e Ovshysher (1987) levantaram questões relevantes sobre o tratamento das manifestações cardiovasculares do envenenamento escorpiónico relativas às gênese dos diferentes quadros clínicos. Assim, envenenamento grave foi separado em cinco síndromes, que podem acontecer isoladas ou em conjunto: (1) hipertensão; (2) edema pulmonar com hipertensão; (3) hipotensão; (4) edema pulmonar com hipotensão e (5) distúrbios rítmicos, como taquicardia ou bradicardia sinusal, despolarização atrial e ventricular prematuras, taquicardias supraventriculares, bloqueio átrio-ventricular e taquicardia ventricular. Freire-Maia e Campos (1987), no entanto, salientaram que os resultados de várias pesquisas têm mostrado que o envenenamento escorpiónico é uma síndrome muito complexa, não sendo possível diferenciá-la naquelas cinco síndromes. Dependendo da dose de veneno usada, taquicardia sinusal e hipertensão arterial poderiam ser seguidas por bloqueio átrio-ventricular e hipotensão. Além disso, alterações de ritmo cardíaco não ocorrem sozinhas, sem efeito simultâneo sobre a pressão arterial sistêmica. Outra comprovação da complexidade foi a constatação de que a taquicardia sinusal é causada por estimulação  $\beta$ -adrenérgica, ao passo que a hipertensão é evocada pela estimulação de catecolaminas em receptores  $\alpha$ .

O eletrocardiograma (ECG) em acidentes escorpiônicos graves apresenta alterações marcantes em humanos e geralmente estão relacionadas a alterações hidroeletrolíticas, a estimulação do sistema nervoso autônomo e a miocardite. Muitas alterações cardíacas são citadas como condizentes com um “padrão tipo infarto de miocárdio precoce”, tais como largas ondas T bifásicas, segmento ST deprimido ou elevado e aparecimento de ondas Q nas derivações I e aVL (Gueron et al., 1992b; Bucarechi et al., 1995; Ismail, 1995). Diferentes arritmias e disritmias cardíacas são descritas no envenenamento escorpiônico, como taquicardia e bradicardia sinusais, fibrilação atrial, dissociação átrio-ventricular com ritmo juncional acelerado, batimentos atriais ou ventriculares prematuros, taquicardia e fibrilação ventriculares, marca-passo mutável, extrasístoles ventriculares, infra ou supradesnívelamento do segmento ST, inversões de onda T, bloqueios átrio-ventriculares, batimentos ventriculares ectópicos, presença de onda U proeminente (Gueron et al., 1967, 1992b; Gueron e Yaron, 1970; Ismail et al., 1976, 1980; Campos et al., 1979; Gueron e Ovsyshcher, 1984; Brand et al., 1988; Ismail e Abd-El Salam, 1988; Amaral et al., 1991; Cupo et al., 1994, 2007; Freire-Maia et al., 1994; Bucarechi et al., 1995; Ismail, 1995; Cupo e Hering, 2002; Melo et al., 2004b). Ismail (1995) cita que a descarga adrenérgica oriunda da estimulação simpática mascara os efeitos dos distúrbios eletrolíticos, ao passo que estímulos vagais os potencializam, tanto que o bloqueio experimental desses efeitos com antagonistas adrenérgicos permitiu rapidamente o registro de ondas T altas e delgadas e complexos QRS largos (sinais de hipercalcemia) e, também, segmentos ST ou intervalos QT prolongados e ondas S maiores que ondas R (sinais de hipocalcemia); intervalos PR e QT prolongados, contrações ventriculares prematuras, taquicardia ventricular e fibrilação ventricular podem ser resultado de hipomagnesemia. Experimentalmente,

Cordeiro et al. (2006) observaram em cães inoculados com veneno de *T. serrulatus* inversão de onda T e/ou aumento estatisticamente significativo de sua amplitude e das ondas P e R, também representativos de distúrbios hidroeletrolíticos.

Alterações de ecocardiograma têm sido descritas cada vez mais, auxiliando o diagnóstico e o tratamento das cardiopatias da SEE. Entre elas podem ser citadas: disfunção sistólica do ventrículo esquerdo, dependente de hipo ou acinesia difusa ou regional do ventrículo esquerdo, com diminuição da fração de ejeção e da porcentagem do encurtamento de fibras (com espessura normal da parede); hipocinesia do septo interventricular e da parede posterior do ventrículo esquerdo; discinesia septal; regurgitação mitral e diminuição da velocidade das ondas E e A do fluxo mitral. Em muitos casos clínicos, essas alterações apareceram concomitantemente a sinais de intensa ativação simpática (Brand et al., 1988; Amaral et al., 1991; Gueron et al., 1992b; Kumar et al., 1992; Cupo et al., 1994, 2003, 2007; Abroug et al., 1995; Ismail, 1995; Cupo e Hering, 2002; Dávila et al., 2002). Esses achados refletem, basicamente, distúrbios do músculo cardíaco, principalmente em decorrência do aumento da demanda de oxigênio e da expressiva liberação de catecolaminas na circulação (Ismail, 1995; Dávila et al., 2002). Brand et al. (1988) compararam as deficiências de contratilidade do músculo cardíaco após envenenamento escorpiônico aos padrões de cardiomiopatia dilatada congestiva. Cupo et al. (2007) relacionaram as disfunções ventriculares esquerdas encontradas em ecocardiograma às manifestações clínicas mais graves, tanto que de sete pacientes picados por *T. serrulatus* que apresentaram fração de ejeção do ventrículo esquerdo menor que 35% (grave depressão), seis desenvolveram edema pulmonar.

As manifestações respiratórias incluem rinorréia, tosse, espirros, estertores pulmonares, sibilos, taquipnéia, dispnéia, bradipnéia, mas sem dúvida, o edema pulmonar é o sinal mais grave e importante (Campos et al., 1979; Cupo et al., 2003). As causas são, por excelência, de origem cardiogênica, embora a literatura nunca descarte a participação de mecanismos não-cardiogênicos, muito evidentes na rotina clínica (presença de edema sem alteração cardíaca) e comprovados em experimentos. As diversas causas são apontadas: (1) a hipertensão arterial de natureza adrenérgica e o aumento da impedância sistêmica, induzindo falência cardíaca esquerda; (2) diminuição do débito cardíaco; (3) aumento de permeabilidade vascular no pulmão, provocada por mediadores inflamatórios, como a bradicinina e histamina; (4) aumento do retorno venoso devido à ação de catecolaminas sobre contração do músculo liso de veias periféricas; (5) miocardite, igualmente causando falência cardíaca (Gueron e Ovsyshcher, 1984, 1987; Freire-Maia e Campos, 1987; Ismail, 1995). O uso do captopril mostrou-se eficiente em reverter edema pulmonar, cianose, diminuir débito cardíaco e pressão arterial, após acidentes escorpiônicos, creditando-se esses efeitos à inibição de angiotensina, com conseqüente vasodilatação e inibição da liberação de catecolaminas (Karnad et al., 1989). Ainda de que forma muito indireta, a liberação de catecolaminas pode influenciar o edema pulmonar também pela inibição de insulina, já que a produção de surfactante pulmonar é dependente desse hormônio, de glicogênio e glicose (Murthy e Hase, 1994). Os edemas foram, por vezes, caracterizados como unilaterais e periféricos, reforçando a participação dos mecanismos não-cardiogênicos (Freire-Maia et al., 1994). Gueron e Ilia (1996) levantaram essa questão ao relatar diversos casos clínicos em que ocorreu edema pulmonar na ausência de hipertensão. O veneno do escorpião *T. discrepans* causou edema e microtrombos em pulmões de coelhos, mas ambos inibidos

por tratamento com heparina, fazendo-se supor que a ativação da cascata de coagulação seja envolvida, também, na gênese do edema pulmonar (D'Suze et al., 1999). Nesse mesmo trabalho, os autores propõem que o termo “edema pulmonar” seja abandonado e substituído por “síndrome do distresse respiratório”, frente a tantos mecanismos e sinais inerentes à ação pulmonar do veneno escorpiônico. A participação de fator ativador de plaquetas (PAF) também foi evidenciada na gênese do edema pulmonar causado por veneno de *T. serrulatus*, visto que o influxo de neutrófilos para os pulmões e aumento de permeabilidade foram inibidos por antagonistas de receptores PAF e de citocinas quimotáticas (Coelho et al., 2007). Lesões pulmonares foram descritas em pacientes por Cupo et al. (1994) e consistiam de aumento de volume e congestão bilaterais, parênquima congesto contendo líquido espumoso e hemorrágico, alvéolos pulmonares difusamente repletos de material amorfo e proteináceo ou mesmo hemorrágicos em áreas focais. Em ratos anestesiados e ventilados mecanicamente, o veneno de *T. serrulatus* causou diminuição de complacência pulmonar sem modificar a resistência aérea, devido a ausência de contração muscular e outros achados que justificam essas alterações, como edema moderado, espessamento de parede alveolar, áreas de colapso e infiltração inflamatória (Andrade et al., 2004).

Com exceção do veneno de *Palamneus gravimanus*, que causa grave hipotensão por conter histamina em sua composição, todos os venenos causam marcante hipertensão em animais experimentais e pacientes humanos (Ismail et al., 1975; Ismail, 1995). Em muitos trabalhos, casos clínicos são relatados, indicando, principalmente em crianças, elevadas pressões sistólica e diastólica, na maioria das vezes associadas à presença de edema pulmonar (Campos et al., 1979; Abroug et al., 1991; Rezende et al., 1998; Cupo e Hering, 2002; Cupo et al.,

2007). Em princípio, a liberação excessiva de catecolaminas no acidente escorpiônico é muito sugestiva e confirmada em diversos trabalhos que a relacionam à hipertensão (Gueron e Yaron, 1970; Dávila et al., 2002; Abroug et al., 2003; Noura et al., 2005; Ouanes-Besbes et al., 2005). O envolvimento de mecanismos reguladores hemodinâmicos, como o sistema renina-angiotensina foram confirmados a partir da dosagem de renina e aldosterona no plasma em pacientes hipertensos picados por *L. quinquestratus*, os quais se apresentaram até 20 e 10 vezes aumentados, respectivamente (Gueron et al., 1992a), o que também condiz com a ação adrenérgica. Em casos extremos e terminais, controversamente, instala-se uma síndrome de choque ou grave hipotensão, a qual ainda não teve seus mecanismos completamente elucidados, mas geralmente segue-se a um período hipertensivo. Diversas razões têm sido propostas, como efeito colinérgico periférico, apnéia e bradicardia, efeito de bradicinina, hipovolemia devido às perdas hídricas; estimulação vagal central, e estimulação de reflexo vagal iniciado de receptores pulmonares (Gueron e Ovsyshcher, 1987; Gueron e Sofer, 1994; Ismail, 1995; Freire-Maia e Campos, 1987; Melo et al., 2004b). Freire-Maia e Campos (1987) relataram a experiência de seu grupo de pesquisa com a hipotensão do envenenamento escorpiônico. Seus resultados indicaram que ventilação mecânica foi muito importante na manutenção de ratos envenenados por até 3h, o que não ocorreu por tanto tempo quando se utilizou apenas atropina, revelando-se a bradicardia e a apnéia responsáveis, pelo menos em parte, na hipotensão e morte desses animais.

Embora comparações entre a hipertensão do envenenamento escorpiônico e a causada pelo feocromocitoma sejam pertinentes, Ismail (1995) procurou dar outras explicações para o longo efeito e potencialidade da pequena quantidade de

toxina escorpiônica aplicada num acidente, a qual é capaz de causar liberação muito intensa de catecolaminas. Sugeriu-se, então, que o veneno agiria em vias sensoriais aferentes, causando divergências do impulso originalmente gerado pelo veneno, resultando num somatório de impulsos e efeitos exagerados sobre o sistema nervoso central. Entre várias ponderações na literatura acerca desses efeitos sobre o sistema nervoso central, Sofer e Gueron (1988) acreditam que esses sejam consequência, e não causa das ações periféricas, principalmente quando se observa que muitas manifestações cardiovasculares aparecem várias horas após o acidente, quando a maior parte do veneno e agentes farmacológicos liberados já está quase ou totalmente eliminada. Essa explicação refuta, em parte, a teoria original de que crianças são mais susceptíveis ao veneno escorpiônico por causa do desenvolvimento incompleto da barreira hemato-encefálica que permitiria a entrada de toxinas no cérebro (Ismail e Abd-Elsalam, 1988; Nunan et al., 2003, 2004). Nos casos mais graves o sistema nervoso é acometido causando tremores, espasmos musculares, fasciculações, ansiedade, convulsões, letargia, espasticidade, agitação, mioclonia, hemiplegia, hiperirritabilidade, hiper e hipotermia, opstótonos, inconsciência e coma. A vasoconstrição causada pelas catecolaminas, no cérebro, leva a hipóxia cerebral, congestão, infartos e microtrombos (Gueron et al., 1967; Campos et al., 1979; Ismail, 1995; Cupo et al., 2003; Melo et al., 2004b).

## 2.5 – Diagnóstico e tratamento

O diagnóstico laboratorial do envenenamento escorpiônico é realizado por meio de técnicas imunológicas que detectam

proteínas do veneno na circulação sanguínea. Chávez-Olórtegui et al. (1994) padronizaram um teste ELISA para a detecção de antígenos tóxicos em envenenamentos experimentais de camundongos e em pacientes humanos. Seu objetivo, além do diagnóstico conclusivo, é oferecer aos clínicos, informações sobre a quantidade de antígenos tóxicos circulantes para auxiliar na soroterapia, bem como avaliar a sua eficácia por meio do estudo cinético das interações veneno-antiveneno. Rezende et al. (1995) foram os pioneiros em quantificar as toxinas de *T. serrulatus* no soro de pacientes usando esta técnica, de modo que foram determinados níveis médios de veneno circulante em função do quadro clínico (15,07 ng/ml nos pacientes com manifestações sistêmicas e 2,14ng/ml naqueles com sintomatologia apenas local) e, ainda, 1h após a administração do soro antiescorpiônico, foi demonstrado que não havia mais toxinas circulantes, confirmando a eficácia do mesmo.

O tratamento visa neutralizar o mais rápido possível a toxina circulante, combater os sintomas e dar suporte às condições vitais do paciente. Todo paciente picado por escorpião deve ficar pelo menos por 4 a 6h em observação hospitalar, nos casos leves, e 24h nos casos moderados. Nos casos graves, as manifestações cardiorrespiratórias inspiram monitorização contínua. A dor local pode ser combatida com anestésicos sem vasoconstrictor ou analgésicos orais ou parenterais. Em caso de vômitos profusos, além da correção hidroelétrica, pode-se fazer uso de antieméticos. O soro antiescorpiônico (ou antiaracnídeo) por via intravenosa está formalmente indicado em todos os casos graves e nos moderados apenas em crianças abaixo de sete anos de idade (Freire-Maia et al., 1994; Cupo et al., 2003; Melo et al., 2004b). O soro antiaracnídeo não está disponível para a Medicina Veterinária, devendo-se o tratamento de animais domésticos ser

baseado apenas no suporte das funções vitais e no controle da dor (Melo et al., 2004b).

### 3. OBJETIVOS

#### 3.1 - Objetivo geral:

Avaliação clínica e laboratorial de cães adultos submetidos à inoculação de veneno do escorpião *T. serrulatus* Lutz e Mello, 1922.

#### 3.2 - Objetivos específicos:

- Determinação de uma dose de veneno de *T. serrulatus* para a realização do estudo clínico e laboratorial.
- Estudo clínico, incluindo a avaliação das funções cardiovascular e pulmonar de cães adultos após inoculação de veneno de *T. serrulatus*.
- Estudo laboratorial (hematológico, bioquímico sérico e plasmático, e urinálise) de cães após a inoculação de veneno de *T. serrulatus*.

### 4. MATERIAL E MÉTODOS

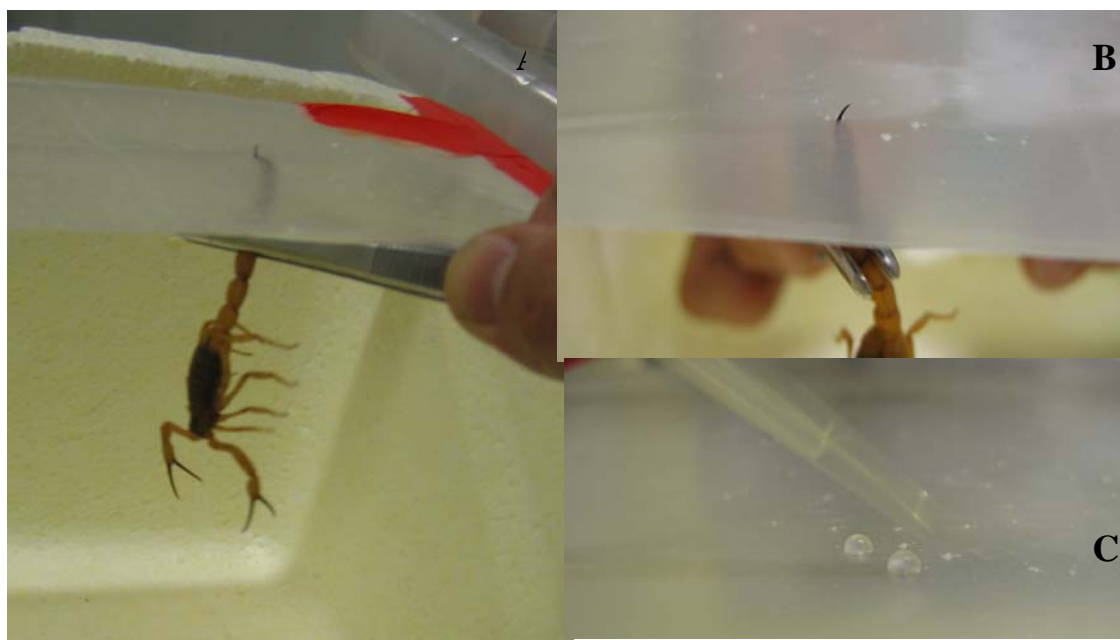
#### 4.1 – Veneno

Foi utilizado um pool de venenos de vários escorpiões da espécie *T. serrulatus* capturados na região de Belo Horizonte (MG), gentilmente cedido pelos Professores Chávez-Olórtegui<sup>2</sup> e Kalaphotakis<sup>3</sup>.

---

<sup>2</sup> Professor Dr. Carlos Delfin Chávez-Olórtegui, Departamento de Bioquímica e Imunologia – Instituto de Ciências Biológicas (ICB) – UFMG

<sup>3</sup> Professor Evanguedes Kalaphotakis, Departamento de Biologia Geral – Instituto de Ciências Biológicas (ICB) - UFMG



**Figura 2** – Extração do veneno de *T. serrulatus*. Em A e B, compressão do aguilhão do escorpião contra uma peça de parafilme. Em C, recolhimento das gotículas ejetadas sobre o parafilme.

O método de extração do veneno foi manual, em que o télson era pressionado contra uma peça de parafilme<sup>4</sup> até este ser perfurado pelo aguilhão; o veneno ejetado era adicionado de água destilada, recolhido, centrifugado para remoção de constituintes, tais como muco e debris celulares, e liofilizado, conforme técnica descrita por Kalapothakis e Chávez-Olórtegui (1997) (Figura 2).

O veneno liofilizado foi ressuscitado em solução salina tamponada com fosfato (PBS) para a dosagem de proteínas pelo método do reagente Folin-Fenol-Ciocalteau (Lowry et al., 1951). Em seguida a solução foi alíquotada e congelada a -20 °C.

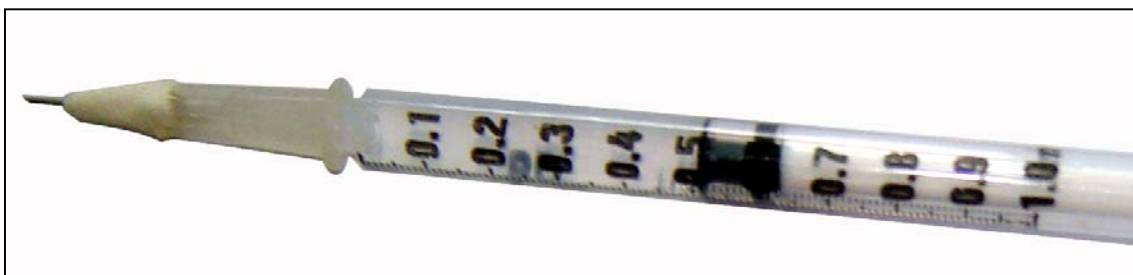
<sup>4</sup> American National Can Group, Inc – San Diego, EUA

## 4.2 – Experimento-piloto

Para determinar qual a dose de veneno utilizada no experimento, foram inicialmente testadas, num experimento-piloto, três doses: 25, 50 e 250µg/kg, em três cães com peso de 12,8kg (cão 1), 8,2kg (cão 2) e 11,8kg (cão 3). O experimento-piloto teve metodologia semelhante à descrita para o experimento principal (ver item 4.3), exceto pelas doses diferentes e por ter sido conduzido até 24 horas após o envenenamento. As duas primeiras doses foram escolhidas com base na quantidade de veneno que um escorpião poderia inocular em um acidente natural, enquanto a dose de 250µg/kg, mantida para o experimento principal, foi aumentada em 10 vezes em relação à primeira dose visando à manifestação de alterações clínicas sistêmicas, especialmente as cardio-pulmonares. Os parâmetros observados no

experimento-piloto, que apontaram a dose de 250µg/kg como a mais indicada, foram: exame clínico, alterações locais,

hemograma, ECG, ecocardiograma e dosagens de CK, amilase e glicose.



**Figura 3** – Seringa de 1ml usada para a inoculação do placebo e do veneno, com dispositivo de esparadrapo adaptado à agulha para mimetizar o aguilhão do escorpião.

### 4.3 – Experimento principal

#### 4.3.1 - Cães

Foram usados 12 cães sem raça definida, machos, adultos (idade não determinada), vacinados contra Raiva, e com sorologia

negativa para leishmaniose<sup>5</sup>, cedidos pelos Centros de Controle de Zoonoses de Belo Horizonte e Betim. Os cães foram mantidos no Canil de Experimentação de Pequenos Animais (CEPA) da Escola de Veterinária da UFMG, após passarem por quarentena de 15 dias, período em que foram examinados, banhados<sup>6</sup>, desverminados<sup>7</sup>, tratados contra ectoparasitas<sup>8</sup> e vacinados<sup>9</sup>. Foram abrigados em canis individuais (2m X 3m) com solário onde receberam dieta à base de ração canina

<sup>5</sup> ELISA e RIFI – Professor Dr. Élvio Carlos Moreira, Laboratório de Epidemiologia - Departamento de Medicina Veterinária Preventiva – Escola de Veterinária – UFMG

<sup>6</sup> Shampoo Sanol Dog® - Total Química, Embu-SP

<sup>7</sup> Helfine Cães® - Agener União, São Paulo -SP

<sup>8</sup> TopLine RED® - Merial

<sup>9</sup> Vanguard® - Pfizer

comercial<sup>10</sup> e água à vontade. Para a realização dos exames clínicos, eletrocardiogramas e ecocardiogramas, os cães eram transferidos para um consultório do Hospital Veterinário da UFMG.

Formaram-se dois grupos, por sorteio, com seis cães em cada: grupo I (placebo), peso médio de 12,9 ± 3,4 kg e grupo II (veneno), peso médio de 15,5 ± 7,0 kg (média dos 12 cães: 14,2 ± 5,4 kg). A tabela 1 apresenta os pesos dos cães do grupo II e a quantidade total de veneno inoculada em cada. A dose de 250µg/kg de veneno de *T. serrulatus* utilizada neste experimento, determinada previamente no experimento-piloto, foi diluída em 0,5ml de PBS. A inoculação foi feita por via subcutânea na face interna da coxa esquerda dos cães do grupo II com seringa hipodérmica descartável de 1,0ml para insulina<sup>11</sup>, com dispositivo de esparadrapo adaptado à agulha para mimetizar o aguilhão do escorpião (4mm) (Figura 3). Os cães do grupo controle receberam 0,5ml de PBS, como placebo.

<sup>10</sup> Croc Dog® - Socil / Royal Canin, rações variadas

<sup>11</sup> BD Plastipak®

Após o período experimental os cães foram encaminhados para adoção.

#### 4.3.2 – Exames clínicos

Os cães foram submetidos a exames clínicos antes da inoculação do veneno (T zero) e

após 1h (T1), 2h (T2), 4h (T3), 6h (T4), 8h (T5), 10h (T6), 12h (T7), 24h (T8), 48h (T9) e 72h (T10). Foram feitas avaliação de mucosas e linfonodos, aferição das frequências cardíaca e respiratória, avaliação de batimentos e ritmo cardíacos e movimentos respiratórios, avaliação do pulso da artéria femoral, mensuração da

**Tabela 1** – Peso dos cães do grupo II (envenenado) e quantidade total de veneno de *Tityus serrulatus* inoculada.

	Cão 1	Cão 2	Cão 3	Cão 4	Cão 5	Cão 6
Peso (kg)	11,8	28,8	15,0	16,4	12,8	8,3
Veneno (mg)	2,95	7,20	3,75	4,10	3,20	2,08

temperatura retal, palpação abdominal e exame do membro posterior esquerdo e do local de inoculação do veneno.



**Figura 4** - Mensuração da pressão arterial. Acima, o posicionamento da probe do estetoscópio ultrassônico sobre o ramo digital comum da artéria radial. Abaixo, o posicionamento do manguito e do esfigmomanômetro.

ECG foram realizados em aparelho eletrocardiógrafo<sup>12</sup>, com registro em papel eletrocardiográfico termo-sensível<sup>13</sup>, antes da inoculação do veneno (T zero) e após 30min (T1), 1h (T2), 2h (T3), 4h (T4), 8h (T5), 12h (T6), 24h (T7) e 48h (T8).

A pressão arterial sistólica foi medida em triplicata nos mesmos tempos dos ECG com esfigmomanômetro<sup>14</sup> conectado a um manguito pediátrico neonatal<sup>15</sup>, o qual era colocado ao redor braço esquerdo do cão, e com auxílio de estetoscópio ultrassônico tipo *Doppler*<sup>16</sup>, cuja probe era posicionada na superfície palmar do mesmo membro sobre o ramo digital comum da artéria radial para a audição do fluxo sanguíneo (Figura 4) Foi considerado o valor médio de cada triplicata.

Radiografias do tórax látero-laterais esquerdas e ventro-dorsais foram realizadas

<sup>12</sup> FUNBEC Eletrocardiógrafo ECG40

<sup>13</sup> ECG – 48mm X 30m, CG Daru S/A

<sup>14</sup> Missouri® - Press Control Indústria e Comércio LTDA, São Paulo-SP

<sup>15</sup> Neonate4 – DISPOSABLE Blood Pressure Cuff - CE®

<sup>16</sup> Embracrios U700



em filmes para radiografia<sup>17</sup> (24 X 30cm e 30 X 40cm) e em aparelho de raio-X<sup>18</sup> no dia anterior à inoculação do veneno (T zero) e após 7 horas (T1).

O ecocardiograma foi feito com aparelho de ultra-sonografia<sup>19</sup>, composto pelos modos M, bidimensional e Doppler pulsado, contínuo e mapeamento em cores. As imagens do modo bidimensional serviram de orientação para a realização dos demais modos. No modo M foram realizadas as medidas do diâmetro interno do ventrículo esquerdo no final da sístole e da diástole, para cálculo dos volumes sistólico e diastólico finais e a distância entre o septo ventricular e a abertura máxima inicial da válvula mitral (EPSS). Pelos modos Doppler, por mapeamento em cores e dimensional, foram localizados os melhores fluxos coloridos e, posicionado-se o volume de amostra do modo Doppler pulsado, foram registrados os fluxos pulmonar (paraesternal direito), aórtico, mitral, e tricúspide (paraesternal esquerdo). O tempo de relaxamento isovolumétrico (TRIV) foi obtido na posição paraesternal esquerda. Todas as mensurações foram gravadas em videoteipe<sup>20</sup> para avaliações posteriores. Estes exames foram feitos no dia anterior à inoculação do veneno (T zero) e após 10h (T1).

#### 4.3.3 – Exames laboratoriais

Coleta de urina foi feita antes da inoculação do veneno (T zero) e após 8h (T1), 24h (T2) e 48h (T3) com uma sonda uretral<sup>21</sup> para realização de urinálise. A densidade urinária

foi determinada por refratômetro<sup>22</sup> e o exame químico foi feito com tiras reativas<sup>23</sup>, além do exame microscópico do sedimento.

Amostras de sangue foram coletadas antes do envenenamento (T zero) e após 2h (T1), 6h (T2), 12h (T3), 24h (T4), 48h (T5) e 72h (T6). As coletas foram feitas por punção das veias jugular ou cefálica com agulha para coleta a vácuo<sup>24</sup> e tubos de 3ml<sup>25</sup> com sal dissódico do ácido etilenodiaminotetracético (EDTA) a 10%, fluoreto de sódio e sem anti-coagulante.

O hemograma foi realizado utilizando-se o sangue coletado com EDTA a 10%, em contador eletrônico<sup>26</sup> e os esfregaços sangüíneos foram feitos em lâminas de vidro (26 x 76mm)<sup>27</sup> e corados com May Grunwald - Giemsa<sup>28</sup> para a contagem diferencial de leucócitos e de plaquetas. A mensuração do volume globular (VG) foi feita em tubos de micro-hematócrito sem anti-coagulante<sup>29</sup>.

Foram realizadas dosagens plasmáticas de glicose do sangue coletado com fluoreto de sódio e séricas de uréia, creatinina, proteínas totais (PT), aspartato aminotransferase (AST), alanina aminotransferase (ALT), creatina-quinase (CK), amilase pancreática, lactato-desidrogenase (LDH) por método colorimétrico cinético<sup>30</sup> em aparelho

<sup>17</sup> KODAK® - Manaus-AM

<sup>18</sup> VMI® - 500 mA

<sup>19</sup> Ecocardiógrafo Hewlett Packard® - Sonos 100CF

<sup>20</sup> Vídeo Gravador Sony – Sony Corporation

<sup>21</sup> Sanobiol® - Pouso Alegre -MG

<sup>22</sup> Ningbo Utech International CO LTDA, China

<sup>23</sup> Uri-Test 10® - Inlab, Alemanha

<sup>24</sup> LABOR IMPORT® - Osasco-SP

<sup>25</sup> VACUETTE®, Greiner Bio-One Brasil – Americana-SP

<sup>26</sup> Diatron® - Abacus Junior Vet / CELM DA-500® - CELM, Cia. Equipadora de Laboratórios Modernos – Barueri-SP

<sup>27</sup> Lâminas para Microscopia Exacta - Perfecta, São Paulo-SP

<sup>28</sup> May Grunwald/Giemsa – Doles® Reagentes, Goiânia, GO.

<sup>29</sup> Micron Glass® - São Paulo-SP

<sup>30</sup> SYNERMED® - Synermed International Inc., Westfield, EUA

analisador bioquímico<sup>31</sup>. A dosagem sérica de potássio foi feita por método colorimétrico<sup>32</sup> e com leitura em espectrofotômetro<sup>33</sup>.

A determinação semi-quantitativa de Troponina I cardíaca (cTnI) foi feita no soro por meio de teste imunocromatográfico<sup>34</sup>, capaz de detectar concentrações acima de 1ng/ml de cTnI na amostra.

O proteinograma foi feito por meio de eletroforese com tampão Tris em filmes de agarose<sup>35</sup> e as bandas eletroforéticas foram lidas e quantificadas pelo *software* SE-250<sup>36</sup> para determinar a porcentagem de albumina e globulinas  $\alpha$ ,  $\beta$  e  $\gamma$ .

As mensurações quantitativas de insulina e cortisol no soro foram realizadas por técnica de radioimunoensaio<sup>37</sup> fase-sólida marcado com <sup>125</sup>I e com contador gama<sup>38</sup>.

#### 4.3.4 - Análises estatísticas

O delineamento experimental aplicado foi o inteiramente casualizado em esquema de Parcelas Subdivididas, conforme preconiza Sampaio (2007). As parcelas correspondem aos tratamentos (controle e veneno) e as subparcelas, aos tempos em horas. Os dados referentes aos diferentes grupos e tempos foram plotados em tabelas e analisados pelos programas de computador SAS (Statistical

Analysis System)<sup>39</sup> e SAEG (Sistema para Análises Estatísticas e Genéticas)<sup>40</sup>. Foram feitos os testes de normalidade (Lillifors, Kolmogorov-Smirnov e Shapiro-Wilk) e para as variáveis que apresentaram distribuição normal (algumas delas após sofrer transformação logarítmica ( $\log 10 x + 1$ ) foi realizada a Análise de Variância (ANOVA) e a comparação de médias pelo teste de Tukey. Para as variáveis com distribuição não-normal foram aplicados os testes não-paramétricos de Friedman, para comparar tempos, e de Mann-Whitney, para comparar grupos. O teste de Kruskal-Wallis foi realizado para comparar as sub-parcelas das variáveis que apresentaram diferenças nos testes de Friedman e Mann-Whitney.

#### 4.4 - Ética em experimental animal

O projeto de pesquisa foi aprovado pelo CETEA – Comitê de Ética em Experimentação Animal da UFMG, com o número de protocolo 15/2006, em 12 de julho de 2006 (certificado em anexo).

### 5 - RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 5.1 – Considerações gerais e experimento-piloto

Este trabalho teve como motivações a importância do escorpionismo para a saúde pública e a escassez de dados na literatura científica sobre a ocorrência de acidentes na Medicina Veterinária. Os dados epidemiológicos apontam os acidentes humanos com escorpiões como os mais

---

<sup>31</sup> Cobas Mira –Roche – GMI, Global Medical Instrumentations, Inc. – Ramsey, EUA

<sup>32</sup> DOLES® Reagentes, Goiânia-GO

<sup>33</sup> Coleman 35D

<sup>34</sup> Hexagon Troponin® - Human GmbH, Wiesbaden - Alemanha

<sup>35</sup> CELMGEL® - CELM – Cia. Equipadora de Laboratórios Modernos, Barueri-SP

<sup>36</sup> Software SE-250

<sup>37</sup> COAT-A-COAT® - DPC-Diagnostic Products Corporation, Los Angeles-EUA

<sup>38</sup> COBRA II Auto Gama – Packard BioScience Company

---

<sup>39</sup> SAS® – Statistical Analysis System – Cary, EUA

<sup>40</sup> SAEG® - UFV – Universidade Federal de Viçosa, Brasil

prevalentes dentre os causados por animais peçonhentos na cidade de Belo Horizonte (MG), além de registrarem expressivamente o envolvimento da espécie *T. serrulatus*. Porém, não há, na Medicina Veterinária, dados estatísticos organizados apontando a incidência de acidentes por animais peçonhentos, embora sejam freqüentes e de grande importância (Melo et al., 2004a).

O cão é o animal doméstico mais próximo do ser humano nas grandes cidades, coabitando com ele e, por isso, o animal mais propenso ao acidente escorpiônico, despertando interesse em conhecer os efeitos fisiopatológicos do envenenamento nessa espécie. O estudo com cães possibilitaria, ainda, a avaliação de diversos parâmetros cardiovasculares, por meio de ecocardiograma, que não seriam possíveis com outras espécies usadas na experimentação animal (camundongo, rato, cobaio, coelho).

A utilização de um *pool* de venenos foi muito importante para a exequibilidade deste experimento, pois é bem conhecido que a produção de toxinas por animais peçonhentos sofre variações em função de espécie, idade, *habitat*, alimento, clima e utilização de seu veneno com fins predatórios (Chippaux et al., 1991; Possani et al., 1992). No caso dos escorpiões do gênero *Tityus*, que produzem tanto  $\alpha$  quanto  $\beta$  toxinas, específicas de canal de sódio, as variações individuais no tipo e quantidade de toxinas secretadas acontecem, ainda, em função da freqüência de extração de veneno, conforme observado por Kalapothakis e Chávez-Olórtegui (1997). Portanto, o veneno obtido de muitos escorpiões da espécie submetidos a várias extrações e oriundos de diferentes locais, tende a ser um *pool* representativo de toda a sua constituição e complexidade de toxinas características.

A extração manual do veneno, embora trabalhosa, mimetiza a ejeção natural do veneno, de modo que sejam secretadas apenas as toxinas da glândula, enquanto a técnica de eletroestimulação do télson, uma outra alternativa, aumenta a mortalidade de escorpiões e provoca a secreção de substâncias não-tóxicas que diluem as toxinas (Hassan, 1984). Todo o veneno extraído foi centrifugado com o intuito de separar muco e debris celulares, também ejetados, para aumentar o rendimento e a pureza das proteínas tóxicas, enquanto a liofilização facilitou os procedimentos de diluição e alíquotagem, sem intervir na estabilidade das proteínas (Possani, 1984). O método do Fenol-Folin-Ciocalteau (Lowry et al, 1951) que determinou a quantidade de proteínas presente no *pool* de veneno bruto obtido, é muito sensível, colorimétrico, baseado na reação de grupos fenólicos de triptofano e tirosina das proteínas com o reagente (Kaneko, 1997b).

A escolha da dose de veneno que foi utilizada neste experimento levou em consideração a representação da quantidade de veneno que o animal peçonhento inocula naturalmente e que cause os efeitos clínicos que se deseja estudar. Nishigawa et al. (1994), calcularam a  $DL_{50}$  do veneno de *T. serrulatus* em camundongos e encontraram o valor de 1,160mg/kg ou 23,2 $\mu$ g por camundongo de 20g. Rezende et al. (1995), por meio do teste imunoenzimático ELISA, encontraram nível sanguíneo médio de 15,07  $\pm$  2,67ng/ml de veneno circulante entre pacientes humanos que apresentavam manifestações sistêmicas após acidentes com *T. serrulatus*. Bücherl (1971), citado por Hassan (1984), calculou a média de 0,62mg de veneno extraído por escorpião *T. serrulatus* pelo método de excitação elétrica e 0,39mg por escorpião *T. bahiensis*, sendo 2,0mg de veneno a secreção máxima obtida para essas duas espécies. Portanto, a quantidade necessária de veneno para causar alterações sistêmicas em humanos é muito menor que a  $DL_{50}$  citada, mesmo que a quantidade de veneno circulante mensurada

através de ELISA varie entre os pacientes e seja menor que a quantidade total inoculada. Os três cães envenenados manifestaram dor imediata no local da aplicação do veneno. Andavam e corriam sem apoiar o membro posterior esquerdo; não conseguiam sentar e deitavam, com dificuldade, apenas sobre o lado direito do corpo, mantendo a coxa esquerda flexionada (Figuras 5). Os três cães lambiam o local da inoculação por diversas vezes, demonstrando desconforto, inquietação e vocalização. Apresentaram, também, hipersensibilidade ao toque na coxa esquerda. Esses sinais foram observados durante períodos diferentes em cada animal. O cão 1 já conseguia apoiar o membro no chão 5h após o envenenamento, sem

claudicação, mas continuou lambendo o local até 7h após. O cão 2 apresentou claudicação até 7h após, enquanto o cão 3 voltou a andar normalmente apenas 11h depois. O cão 3 mostrou-se mais apático, permanecendo deitado e imóvel por até 10 minutos, nas primeiras 2h de experimento, e por vezes apresentando vocalização. Água e ração foram oferecidos à vontade durante todo o período experimental; apenas o cão 3 não comeu até 12h após o envenenamento, mas bebeu água normalmente. Embora não tenha sido preparado um protocolo sistemático de avaliação de dor, essas observações mostram claramente a ação do veneno quando inoculado subcutaneamente.



**Figura 5** - Posição do membro posterior esquerdo dos cães do experimento-piloto 30 min após a inoculação do veneno de *Tityus serrulatus*. A: cão 1 (25µg/kg) e B: cão 2 (50µg/kg).

Nos exames clínicos, os animais sempre apresentaram mucosas normocoradas, tempo de preenchimento capilar menor que dois segundos e linfonodos não reativos. A temperatura retal variou entre 38,5° e 39,4°C, não sendo observada hipertermia. A frequência cardíaca (FC) dos três cães envenenados foi maior nas primeiras horas de experimento, sendo superior a 120 bat/min nos cães 1 e 2 (148 e 145 bat/min uma hora após, respectivamente). Porém, houve uma regularidade na FC, com diminuição gradativa de seu valor ao longo do tempo, permanecendo ao redor de 100 bat/min. O cão 3, apesar de ser o animal que

manifestou dor local por mais tempo, não apresentou taquicardia em todas as mensurações realizadas, com FC entre 85 e 110 bat/min. A frequência respiratória (FR) dos cães 1 e 2 também se elevou nas primeiras horas após a inoculação do veneno, ficando acima de 60 mov/min até 4h, sendo esse parâmetro, por vezes, difícil de ser mensurado; o cão 3 foi o que apresentou a FR mais regular, variando entre 40 (antes da inoculação) e 53 mov/min (4h depois). Apesar do efeito estressante da dor e da liberação de neurotransmissores, mediada pelo veneno, deve-se considerar a temperatura ambiente, superior a 27° C nos

dias do experimento, como forte influência sobre a ventilação dos animais.

O hemograma dos três cães (Tabela 2) mostrou que houve discreta diminuição na contagem de hemácias e no volume globular (VG). Os valores de leucograma mostram, no entanto, que todos os cães apresentaram aumento no número de leucócitos entre 2h e 6h após o envenenamento. Apesar do cão 1 já apresentar leucocitose antes da inoculação, os leucócitos aumentaram

também às 2 e 6h. O número de neutrófilos segmentados acompanhou o aumento de leucócitos totais, caracterizando o quadro como leucocitose com neutrofilia. Os cães 2 e 3 apresentaram aumentos de linfócitos 6h após. Não houve alterações nas contagens de eosinófilos e monócitos. Vinte e quatro horas após, apenas o cão 1 apresentou retorno à contagem inicial no número de leucócitos totais e neutrófilos.

**Tabela 2** – Valores de hemácias, volume globular, leucócitos totais, neutrófilos e linfócitos dos cães do experimento-piloto antes e após a inoculação de veneno de *Tityus serrulatus*.

Cães	Tempo	Hemácias (10 <sup>6</sup> /μl)	Hb (g/dl)	VG (%)	Leucócitos totais (10 <sup>3</sup> /μl)	Neutrófilos (10 <sup>3</sup> /μl)	Linfócitos (10 <sup>3</sup> /μl)
Cão 1 25μg/kg	T zero	7,08	16,2	50	19,8	13,8	4,35
	T1 - 2h	6,34	14,5	46	21,9	17,3	4,16
	T2 - 6h	6,22	14,0	43	23,9	19,56	3,10
	T3 - 12h	6,25	14,2	45	21,1	17,09	2,11
	T4- 24h	6,75	15,0	48	19,6	12,93	4,50
Cão 2 50μg/kg	T zero	8,58	13,8	45	11,7	8,19	1,87
	T1 - 2h	8,07	13,7	42	17,7	13,09	2,83
	T2 - 6h	7,66	13,3	43	17,9	14,85	1,61
	T3 - 12h	7,49	12,9	44	15,2	10,94	2,88
	T4- 24h	6,87	11,9	40	17,6	13,72	1,23
Cão 3 250μg/kg	T zero	6,01	12,7	40	13,4	8,04	4,42
	T1 - 2h	6,27	13,5	43	20,9	14,63	5,01
	T2 - 6h	6,07	13,0	41	23,7	20,14	2,60
	T3 - 12h	5,75	12,9	42	21,2	16,96	2,75
	T4- 24h	5,36	12,1	40	18,3	13,17	3,47

Hb- Hemoglobina; VG - Volume globular

Valores de referência: Hemácias: 5,5-8,5 X10<sup>6</sup>/μl; VG: 37-55 %; Leucócitos totais: 6-17 X 10<sup>3</sup>/μl;

Neutrófilos segmentados: 3,5-12,5 X 10<sup>3</sup>/μl; Linfócitos: 1,5 –5,0 X 10<sup>3</sup>/μl. (Jain, 1993)

A alteração desse parâmetro nos três animais sugere leucocitose relacionada à liberação de catecolaminas, causada tanto pelo estresse da dor, quanto pelo efeito neurotóxico do veneno escorpiônico.

À auscultação cardíaca não foram detectadas alterações significativas, apenas arritmia

sinusal constante nos cães 2 e 3 até 12h. A avaliação eletrocardiográfica, apresentada na Tabela 3, mostrou poucas alterações. A FC, já citada, alterou-se principalmente nas primeiras horas após o envenenamento. Na avaliação de ritmo cardíaco, a arritmia sinusal foi também identificada nos traçados dos cães 2 e 3, somente após o

envenenamento. Arritmia sinusal é um achado freqüente em cães sadios caracterizado por alternância de períodos de freqüência cardíaca mais rápidos e mais lentos e relacionado a interferências dos movimentos respiratórios sobre o nervo vago: a FC aumenta na inspiração e diminui na expiração (Tilley, 1992). Como os animais envenenados não apresentavam alterações à auscultação antes do envenenamento, sugere-se que o efeito da dor sobre a respiração tenha mediado a

arritmia sinusal nesses cães. Os intervalos QRS, QT e PR não alteraram, com duração muito próxima antes e após o envenenamento e valores dentro da margem de referência para a espécie. Os intervalos ST não apresentaram, em nenhum momento, infra ou supradesnivelamento. Esses resultados indicam que os cães envenenados não apresentaram alterações na condução do impulso nervoso, tendo despolarização de átrios, despolarização e repolarização de ventrículos normais.

**Tabela 3:** Freqüência cardíaca, intervalos QRS, QT e PR e média aritmética das pressões arteriais sistólica e diastólica dos cães do experimento-piloto antes e após a inoculação de veneno de *Tityus serrulatus*.

	Tempo	Freqüência cardíaca	QRS (seg)	QT (seg)	PR (seg)	Sistólica (mmHg)	Diastólica (mmHg)
Cão 1 25µg/kg	T zero	140	0,04	0,20	0,10	140	90
	T1 - 1h	160	0,03	0,20	0,08	200	153
	T2 - 2h	140	0,04	0,20	0,08	140	86
	T3 - 4h	100	0,04	0,20	0,08	140	80
	T4 - 8h	120	0,04	0,20	0,08	143	80
	T5 - 12h	100	0,04	0,20	0,08	140	86
	T6 - 24h	120	0,04	0,20	0,08	150	96
Cão 2 50µg/kg	T zero	140	0,05	0,18	0,07	133	83
	T1 - 1h	140	0,05	0,18	0,08	140	80
	T2 - 2h	120	0,05	0,20	0,09	150	83
	T3 - 4h	110	0,05	0,19	0,09	140	80
	T4 - 8h	120	0,05	0,18	0,08	140	83
	T5 - 12h	120	0,05	0,18	0,08	130	80
	T6 - 24h	140	0,05	0,18	0,08	130	80
Cão 3 250µg/kg	T zero	120	0,05	0,19	0,09	123	80
	T1 - 1h	100	0,05	0,20	0,08	163	96
	T2 - 2h	100	0,05	0,20	0,10	156	93
	T3 - 4h	100	0,05	0,19	0,10	160	90
	T4 - 8h	80	0,05	0,20	0,09	140	83
	T5 - 12h	70	0,05	0,22	0,08	130	80
	T6 - 24h	80	0,06	0,20	0,09	130	80

Valores de referência: FC: 60-120 bat/min; QRS: até 0,06s; QT: 0,15-0,25s com FC normal; PR: 0,06-0,13s (Tilley, 1992). Pressão arterial sistólica: 110-160 mmHg; Pressão arterial diastólica: 70-90 mmHg (Grosenbaugh & Muir (1998)

Os ecocardiogramas realizados 10h após o envenenamento também não apresentaram anormalidades. A auscultação da área pulmonar não acusou alterações

respiratórias, bem como as radiografias torácicas apresentaram áreas cardíaca e pulmonar semelhantes antes e após o envenenamento.

A mensuração da pressão arterial (PA) pelo método não-invasivo com *Doppler* ultrassônico (Tabela 3) mostrou aumento após o envenenamento. A pressão arterial sistólica (PAS) do cão 1 alterou-se apenas 1h após a inoculação, fato que reforça a possibilidade de liberação de catecolaminas mediada pelo veneno. O cão 3 teve a medida da PAS aumentada por mais tempo, em relação ao valor inicial, até 8h após. O aumento de PAS do cão 2 foi discreto, mas acompanhou o mesmo padrão observado no cão 3. Embora a pressão arterial diastólica (PAD) medida por esse método seja pouco acurada (Mucha e Camacho, 2001), e os valores encontrados tenham sido, por vezes, discrepantes, foi possível notar o seu aumento nos cães 1 e 3, acompanhando os maiores valores de pressão sistólica. No entanto, para o experimento principal, decidiu-se não considerar o valor da PAD.

As dosagens de glicose, amilase, AST e CK estão representadas na tabela 4. Houve um aumento expressivo, superior aos limites de referência para cães, no nível de glicose do cão 3, às 2 e 6h após o envenenamento, com retorno à normalidade já às 12h. A hiperglicemia causada foi transitória e concorreu com o período de reação à dor causada pelo veneno, fazendo-se supor que o aumento na liberação de catecolaminas e corticóides causou a hiperglicemia. Porém, 12h após o envenenamento, houve uma súbita diminuição, sugerindo consumo de glicose em função do estresse, além da cessação do efeito hiperglicemiante do envenenamento. Os níveis de AST e CK mantiveram-se dentro da margem de referência, sem alterações, excluindo a presença de lesões musculares e reforçando a ausência de alterações cardíacas em virtude de miocardite, relatadas pela literatura. Os níveis de amilase também não sofreram alterações.

**Tabela 4:** Níveis de glicose (mg/dl), AST (U/l), CK (U/l) e amilase (U/l), dos cães do experimento-piloto antes e após a inoculação de veneno de *Tityus serrulatus*.

	Tempo	Glicose (mg/dl)	AST (U/l)	CK (U/l)	Amilase (U/l)
Cão 1 25µg/kg	T zero	102	46	269	1071
	T1 - 2h	108	83	254	968
	T2 - 6h	103	81	206	988
	T3 - 12h	100	73	190	956
	T4- 24h	87	56	159	903
Cão 2 50µg/kg	T zero	87	42	140	1410
	T1 - 2h	90	63	279	1433
	T2 - 6h	82	57	228	1312
	T3 - 12h	97	45	151	1163
	T4- 24h	103	45	137	1115
Cão 3 250µg/kg	T zero	94	30	95	1179
	T1 - 2h	129	42	120	1092
	T2 - 6h	125	57	122	1110
	T3 - 12h	71	41	198	1011
	T4- 24h	86	34	306	828

AST: aspartato aminotransferase; CK: creatina quinase.

Valores de referência: Glicose: 60-110mg/dl; AST: 10-88 U/l; CK: 52-368 U/l; Amilase: 300-2000 U/l (Jain, 1993)

Frente às alterações encontradas decidiu-se pela dose de 250µg/kg no experimento principal. Essa dose dez vezes maior que a esperada na inoculação natural, embora distanciasse o resultado da real importância do escorpionismo para a espécie canina e fosse um forte indício de que cães têm menor sensibilidade ao veneno escorpiônico, permitiu que os efeitos patofisiológicos fossem mais evidenciados. Para o experimento principal, foram incluídos os outros parâmetros, citados na metodologia, para ampliar o estudo da SEE.

A utilização de um grupo controle no experimento principal, que não foi inoculado com veneno, foi muito importante, pois os procedimentos feitos no experimento-piloto indicaram claramente os eventos estressantes pelos quais os cães passariam, de modo que o controle das variáveis da dor e do estresse foram fundamentais para as conclusões desse trabalho. Optou-se por cães adultos desde o experimento-piloto para diminuir o risco de óbito durante o recolhimento dos dados, conquanto a idade dos cães possa, provavelmente, ser um fator de sensibilidade ao veneno de escorpião, à exemplo do que acontece em acidentes escorpiônicos humanos. Por fim, o peso dos seis cães do grupo envenenado variou de 8,3 a 28,9kg (tabela 1) mas tal variação não teve influência sobre os resultados, pois a quantidade de veneno inoculado variou em função do peso.

O local escolhido para a aplicação do veneno, a face interna da coxa esquerda, permitiu que o animal fosse mais bem contido durante o período experimental sem o manuseamento constante do membro afetado, principalmente durante a execução dos ECG, dos ecocardiogramas e das aferições da PA. O volume de 0,5ml foi muito maior que o inoculado por um escorpião, mas necessário para o preparo das doses aplicadas em cada animal. A agulha de 12,7 X 0,3mm, parcialmente coberta com

esparadrapo, usada na aplicação da solução de veneno foi uma forma de reproduzir o comprimento e a espessura do agulhão do escorpião.

## **5.2 – Experimento principal**

### **5.2.1 - Comportamento, alterações locais e exame clínico**

Os cães do grupo I (controle) não apresentaram qualquer reação local à aplicação do placebo (PBS).

Todos os cães do grupo envenenado (grupo II) manifestaram dor local e imediata, ainda com a agulha sob o tecido subcutâneo, de um modo mais intenso que os cães do grupo I que apenas sentiram a dor da aplicação de placebo. Os seis cães imediatamente após a aplicação apresentaram desconforto e inquietação e começaram a claudicar (Figura 6), sendo que cinco deles também começaram a lamber e, por vezes, morder o local da aplicação. A claudicação era caracterizada pela suspensão do membro posterior esquerdo, de modo que os cães 1, 2, 3 e 6 andavam e até mesmo corriam sem apoiá-lo no chão.

Todos os cães manifestaram dificuldade em se sentar e sempre que o faziam, mantinham o membro posterior esquerdo flexionado. Mesmo em estação, permaneciam com o membro suspenso, principalmente nas primeiras 2h após a inoculação, (figura 7) sendo que o cão 3 ainda apresentou tremores. Esses quatro cães (1, 2, 3 e 6) voltaram a andar apoiando apenas a extremidade do membro afetado entre 6,5h (cão 3) e 8,5h (cão 6) após o envenenamento. Os cães 4 e 5, embora





**Figura 6** - Membro posterior esquerdo estendido na deambulação (claudicação), apresentado pelos cães 1 e 3 imediatamente após a inoculação de veneno de *Tityus serrulatus*.



**Figura 7** – Postura dos cães 30 minutos após a inoculação do veneno de *Tityus serrulatus*. À esquerda, cão 2 em estação evitando apoiar o membro afetado no chão. À direita, cão 5 sentando-se com dificuldade e mantendo o membro posterior esquerdo flexionado.



**Figura 8** - Cães 1 e 5 lambendo repetidas vezes o membro posterior esquerdo, 1h após a inoculação do veneno de *Tityus serrulatus*.

também claudicassem, conseguiam andar e correr apoiando a extremidade do membro, aos 40 e 50 minutos, após o envenenamento. Todos os cães voltaram a andar normalmente entre 7h (cão 4) e 11h (cães 1 e 2). Os cães 1, 3 e 6 apresentaram resistência, quando forçados a andar, na primeira hora após o envenenamento, tendo que ser carregados para a mudança de local.

Apenas o cão 3 não lambeu o local afetado. Os demais, por inúmeras vezes, deitavam-se e flexionavam o membro posterior esquerdo para lambe a face interna da coxa, bem no local onde o veneno foi aplicado (Figura 8). Por algumas vezes, nas primeiras 2h após a inoculação, os cães 2 e 6 também mordiam o local afetado com os dentes incisivos. Esse comportamento foi constante nas primeiras 3h após o envenenamento e esporádico por até 12h após (cão 1).

Todos os cães vocalizaram muito na hora da aplicação do veneno, porém, logo após e durante as primeiras 6h, os cães 1, 2, 4 e 6 manifestaram discreta vocalização, com frequência esporádica, sobretudo nos momentos de sentar, deitar e levantar e durante os exames clínicos.

Os cães 4 e 5, que retornaram à deambulação normal mais rapidamente eram também os cães de temperamento mais agitado do grupo envenenado, sendo que não apresentaram apatia ou letargia durante o dia do envenenamento. O cão 4 apresentou comportamento de “arrastar ventre no chão”, flexionando os membros posteriores para trás, aparentemente tentando aliviar a dor. Todos os cães do grupo, sentavam e deitavam com dificuldade, evitando deitar sobre o membro afetado, por até 9h (Figura 9).

Todos os cães vocalizaram muito na hora da aplicação do veneno, porém, logo após e durante as primeiras 6h, os cães 1, 2, 4 e 6 manifestaram discreta vocalização, com frequência esporádica, sobretudo nos

momentos de sentar, deitar e levantar e durante os exames clínicos.



**Figura 9** - Comportamentos do cão 2 após a inoculação do veneno de *Tityus serrulatus*, deitando com dificuldade.

Os cães 2, 4 e 5 foram os que apresentaram maior inquietação nas primeiras 4h, não permanecendo deitados ou sentados em uma mesma posição por mais de 3 min. O cão 2 permaneceu de pé, andando ou, por poucas vezes sentado por 1h, quando então deitou-se com dificuldade pela primeira vez e procurou permanecer com o membro posterior esquerdo flexionado (Figura 10B). Os cães 1, 3 e 6 foram os mais letárgicos frente ao envenenamento, permanecendo a maior parte do tempo deitados sobre o lado direito do corpo e mantendo o membro flexionado ou estendido (Figuras 10A e C), por até 9h (cão 1). O cão 3 foi o único que apresentou sonolência, chegando a dormir por cerca de 30 min (Figura 10C), 5h após a inoculação do veneno. O cão 6, quando deitado, tentava permanecer imóvel. Foram fornecidos alimento e água à vontade para

todos os cães. Todos beberam água normalmente. Apenas os cães 1 e 6 não se alimentaram durante o dia da aplicação do veneno. O cão 4 (Figura 10D) comeu ração 1,5h e 8h após o envenenamento, e os cães 3, 5 e 2 apenas 4,5, 5 e 6h após. Todos os cães apresentaram dificuldade no

posicionamento para micção e defecação, mas urinaram e defecaram normalmente. Nos três dias seguintes de observação, os cães se alimentaram, beberam água, urinaram e defecaram normalmente.



**Figura 10** – Comportamentos dos cães após a inoculação do veneno de *Tityus serrulatus*. A: cão 1 deitado sobre o lado direito, imóvel e mantendo o membro afetado bastante flexionado; B: cão 2 deitado, depois de ter permanecido uma hora de pé ou sentado, também mantendo o membro flexionado; C: cão 3 apresentando apatia e sonolência; D: cão 4, alimentando-se normalmente, 1,5h após o envenenamento.



**Figura 11** - Local de aplicação do veneno de *Tityus serrulatus*, no cão 4, apresentando discreta hiperemia (seta).

Em todos os cães, observou-se hipertermia no local de aplicação do veneno e hiperemia até 8h. Porém, a hiperemia pode ter sido agravada pelas lambidas constantes dos cães (Figura 11). O edema local foi discreto, abrangendo cerca de 2cm ao redor do local de inoculação e durou de 2h (cães 1 e 4) a 5h (cão 6). Durante os exames clínicos, todos os cães apresentaram hipersensibilidade ao toque no local da inoculação e quando da extensão do membro por até 8h (cães 1, 4 e 5) e 12h (cães 2, 3 e 6). No entanto, não foi

observada a hipersensibilidade em outras partes do membro posterior esquerdo.

O comportamento dos cães na flexão do membro e recusa em apoiá-lo no chão ocorreu devido à hipersensibilidade causada na região, onde os grupos musculares fazem o movimento de adução e abdução da coxa, além de importante desempenho na sustentação da parte posterior do corpo (Dyce et al., 1997). Essas manifestações de dor são parecidas com as de relatos de casos raros da literatura e de trabalho semelhante, exceto pela ausência de comportamento de agressividade (Cardoso et al., 2004; Cordeiro et al., 2006).

As neurotoxinas do veneno escorpiônico podem causar estímulo doloroso quando interferem no funcionamento de canais iônicos de terminações de fibras nervosas nociceptivas, responsáveis por conduzir tais impulsos ao tálamo, no SNC. Porém, seus efeitos são maximizados por mediadores farmacológicos da dor, que são, via de regra, aminas biogênicas, tais como bradicinina, histamina e serotonina, além de prostaglandinas. Esses mediadores são substâncias liberadas por tecidos lesados ou isquêmicos que atuam também sobre terminações nervosas de fibras nociceptivas (Nascimento Júnior et al., 2005). A dor periférica é iniciada por bradicinina e histamina. As prostaglandinas potencializam seus efeitos por atuarem inibindo os canais de potássio e facilitarem os canais de cátions abertos por agentes nócicos em terminações nervosas (Tasaka, 2002; Rang et al., 2004). Ou seja, as prostaglandinas atuam da mesma forma que as neurotoxinas escorpiônicas sobre terminações nervosas. Íons potássio – que se acumulam no meio extracelular em função do bloqueio de seus canais – também afetam fibras nociceptivas (Rang et al., 2004). Histamina e serotonina (5-hidroxitriptamina), que também causam prurido e excitação, respectivamente, (Rang et al., 2004), são constituintes do veneno de *T. serrulatus*, como mostrado por Nascimento Júnior et al. (2005), e pode-se

atribuir a sua participação na gênese da dor dos cães. Embora não tenha sido feita uma avaliação sistemática de alodinia térmica e mecânica nos cães, como feito em ratos por Nascimento Júnior et al. (2005), as observações nos cães se assemelham àquelas, comprovando a restrição da dor à região do local de aplicação do veneno.

Tanto na dor aguda quanto na crônica, a lesão tecidual ativa os receptores da dor. Os nociceptores estão intensamente concentrados na pele e tecidos mais profundos, como o peritônio, cápsula articular, músculos, tendões e paredes arteriais. Assim que um estímulo nocivo tenha sido aplicado, mediadores farmacológicos da dor são liberados para a estimulação dos nociceptores, dando início e continuidade à dor (Boothe, 1989). O veneno escorpiônico, portanto, apresentou efeito local intenso, que contou com a mediação de fármacos endógenos, para que os cães manifestassem todos os comportamentos de dor local citados. A duração da manifestação da dor e a sua magnitude nos cães podem ter sido influenciadas também pela grande quantidade de veneno inoculada. Embora não se conheçam os parâmetros farmacocinéticos do veneno escorpiônico em cães, tais parâmetros, estudados em ratos, revelam que o veneno de *T. serrulatus* tem alta afinidade por tecidos e uma excreção lenta, se comparada à sua velocidade de absorção (Santana et al., 1996). Os componentes não-tóxicos do veneno de *T. serrulatus* com atividade hialuronidásica já identificados (Pessini et al., 2001), provavelmente contribuíram para a difusão das toxinas pelo tecido subcutâneo.

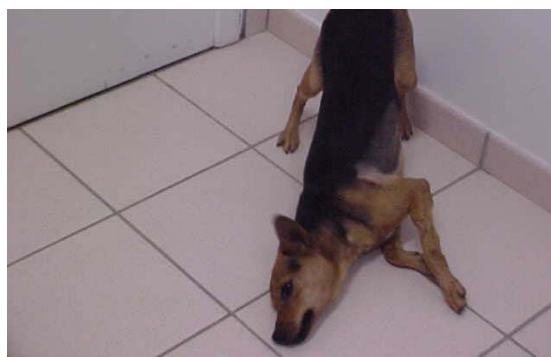
Na Toxicologia Veterinária, os efeitos locais do veneno num animal são muito importantes, pois podem caracterizar o tipo de veneno envolvido. A dor é um sinal amplamente avaliado nos acidentes ofídicos. Em cães, o veneno da serpente *Bothrops*

*alternatus*, a urutu, inoculado entre as escápulas, causou dor intensa representada por relutância em se movimentar, cessação da ingestão de água e alimento, apatia, e claudicação. O veneno botrópico tem constituição diversa e bem diferente do veneno escorpiônico, sendo extremamente lesivo aos tecidos e promotor de respostas inflamatórias graves e extensas (Silva Júnior, 2003). Porém, os mecanismos causadores da dor envolvem os mesmos mediadores farmacológicos atuantes no envenenamento escorpiônico.

Quatro cães apresentaram espirros com intensidade e frequência variadas. O cão 3 começou a espirrar 3h após, quando foi forçado a andar, e a partir de então espirrou todas as vezes que se levantou, embora permanecesse boa parte do tempo deitado. Os espirros ocorriam em intervalos de curta e longa duração, sendo que por três vezes (3, 4,5 e 5,5h após) durou mais de três minutos. Esse quadro durou até 8h após. O cão 4 espirrava independente do movimento, e também manifestava crises, porém com menor duração. Em uma delas, 6h após, apresentou secreção fluida nas narinas e no espelho nasal (Figura 12). O cão 5 apresentou espirros curtos, discretos e apenas duas crises, às 3,5 e 4h após, sendo a primeira após ter permanecido 15 minutos deitado; esse cão espirrou até cerca de 8,5h após, e sempre após andar e correr. O cão 6 espirrou por mais tempo, entre 2 e 9h após, também apresentando espirros sucessivos após se movimentar. Durante os espirros, os cães 5 e 6 apresentaram intenso desconforto, abaixando e sacudindo muito a cabeça e, por vezes, levando as patas ao nariz para coçar. No cão 6 esse comportamento foi mais intenso, com presença de secreção fluidas nas narinas e chegando a esfregar o rosto no chão e levar as patas à boca ferindo a gengiva (Figura 13). O cão 1 não mostrou esses sintomas, enquanto o cão 2 manifestou apenas secreção fluida nas narinas. Todos os cães foram auscultados nos momentos pré-determinados dos exames clínicos e também



**Figura 12** – Cão 4 apresentando secreção fluida nas narinas durante crise de espirros



**Figura 13** - Cão 6 abaixando a cabeça e esfregando-a no chão, durante uma crise de espirros.



**Figura 14** – Cão 1 apresentando sialorréia após inoculação de veneno de *T. serrulatus*

durante os episódios de espirros, não sendo verificadas dispnéia e alterações no fluxo aéreo traqueal e na área pulmonar. Os cães 1, 2, 3 e 6 manifestaram também sialorréia, entre 3,5 e 5h após (Figura 14).



**Figura 15** - Vômito apresentado pelo cão 2 3,5h após, de consistência mucosa e com pouco conteúdo alimentar.

O cão 2 apresentou discreta reação dolorosa ao exame de palpação abdominal 4h após o envenenamento. O cão 6 apresentou reação intensa a esse exame entre 6 e 12h após. Esses cães foram justamente os que vomitaram durante o experimento. O cão 2

vomitou 3,5h após o envenenamento; o vômito era mucoso e com pouco conteúdo alimentar (Figura 15).

O cão 6 vomitou três vezes. A primeira, a mais intensa, foi 1h após a inoculação, durante o exame eletrocardiográfico em T2; no vômito havia muito conteúdo alimentar. Após vomitar, o cão apresentou sialorréia intensa, edema subcutâneo no pescoço e nas pálpebras, e as mucosas orais e conjuntivais muito congestionadas (Figura 16) Após esse episódio, permaneceu deitado e apático. O edema de pálpebras e pescoço durou 50 minutos. O segundo e o terceiro vômitos ocorreram 3 e 3,5h após a inoculação, caracterizados por uma secreção mucosa e brancacenta, sem conteúdo alimentar. As duas manifestações de vômitos ocorreram junto com os eventos de espirros, principalmente quando o cão se levantava.



**Figura 16** – Cão 6 apresentando edema subcutâneo na face e no pescoço e mucosa oral congesta 1h após a inoculação do veneno de *T. serrulatus*.

Os espirros apresentados pelos cães, na ausência de edema pulmonar excluem, em princípio, o quadro clínico grave clássico da SEE, além de serem pouco citados na literatura consultada. Tratou-se de uma manifestação evidente, que não evoluiu e desapareceu após algumas horas. O edema facial apresentado pelo cão 6 reforça a possibilidade de terem acontecido reações de hipersensibilidade do tipo I, provocadas por histamina, anticorpos do tipo IgE, mastócitos, basófilos e eosinófilos. A combinação de IgE com antígeno na superfície de mastócitos causa a formação de moléculas vasoativas e a liberação de histamina dos grânulos dos mastócitos. A histamina provoca contração da musculatura lisa nos brônquios, trato gastrointestinal, bexiga e aumenta a permeabilidade vascular causando extravasamento de fluido, além de ser uma potente estimuladora das secreções exócrinas, estimulando a secreção de muco brônquico, lacrimejamento e salivação (Tizard, 2002). A constrição brônquica e secreção de muco são também consequência da estimulação de receptores muscarínicos pela acetilcolina (Rang et al., 2004), um dos neurotransmissores que podem ser liberados em função da ação neurotóxica do veneno. Os espirros podem ter sido causados por aumento na produção do muco, tendo em vista a presença de muco nas narinas, e também pelo aumento da frequência respiratória em função da movimentação do animal.

O veneno alcança níveis máximos de distribuição nos pulmões de ratos em 30 minutos (Revelo et al., 1996). Essa característica farmacocinética coincide com a forma aguda como os sinais foram observados no cão 6. Não foi encontrada na literatura consultada relatos de toxinas de veneno escorpiónico que lesem ou irrite a mucosa do trato respiratório, mas diante desses sinais apresentados, tal possibilidade deve ser considerada. O rápido edema facial e a congestão das mucosas apresentados pelo cão 6 poderiam ser justificados pela

vasodilatação, aumento de permeabilidade e extravasamento de líquido estimulados pela histamina.

Assim como os espirros, os eventos de salivação abundante, sialorréia e vômitos foram causados por aumento de secreção. O trato gastrointestinal pode ter sido influenciado por efeitos parassimpáticos advindos da liberação de acetilcolina. A acetilcolina estimula as secreções exócrinas de todo o trato gastrointestinal (Rang et al., 2004). A característica mucosa dos vômitos produzidos pelos cães em três das quatro ocorrências, aliada à ausência de conteúdo alimentar e a reincidência em curto espaço de tempo indicam hipersecreção gástrica. O aumento de motilidade intestinal é um efeito parassimpático, que pode ter causado a dor abdominal apresentada pelos dois cães que vomitaram.

Nos exames clínicos, realizados nos tempos previamente fixados, os cães sempre apresentaram linfonodos não-reativos, tempo de preenchimento capilar menor que dois segundos e mucosas normocoradas, à exceção do cão 6 que apresentou mucosas congestionadas nos exames de 1 e 2h após o envenenamento.

Nenhum dos cães apresentou hipertermia. As TR médias dos grupos em todos os tempos foram semelhantes e não foi encontrada diferença estatisticamente significativa ( $P > 0,05$ ), variando no grupo I entre 38,4 e 38,6° C e no grupo II, entre 38,6 e 39,1° C (Tabela 5).

Os mediadores envolvidos na dor, em especial as prostaglandinas, também intermediam a resposta febril, atuando no hipotálamo (Tasaka, 2002). Foi comprovado por Pessini et al. (2006), porém, que a indução de febre causada pelo veneno de *T. serrulatus* aplicado por via intraperitoneal em ratos tem a participação de IL-1, bradicinina, óxido nítrico e neurotransmissão vagal, mas não de

prostaglandinas. De qualquer forma, a ausência de febre nos cães indica que os mediadores possivelmente envolvidos atuaram apenas nas vias nociceptivas.

**Tabela 5** – Temperatura retal média (°C) dos cães inoculados com placebo (grupo I) e com veneno de *Tityus serrulatus* (grupo II) em diferentes tempos

Tempo	Grupo I	Grupo II
T zero	38,6 ± 0,36	38,9 ± 0,29
T1 – 1h	38,4 ± 0,38	38,8 ± 0,36
T2 – 2h	38,4 ± 0,41	38,6 ± 0,21
T3 – 4h	38,4 ± 0,36	39,1 ± 0,31
T4 – 6h	38,5 ± 0,31	39,0 ± 0,18
T5 – 8h	38,4 ± 0,33	38,9 ± 0,23
T6 – 10h	38,4 ± 0,35	38,8 ± 0,40
T7 – 12h	38,4 ± 0,49	38,9 ± 0,37
T8 – 24h	38,5 ± 0,29	38,8 ± 0,24
T9 – 48h	38,6 ± 0,38	38,8 ± 0,41
T10 – 72h	38,6 ± 0,28	38,7 ± 0,29

Não houve diferença estatisticamente significativa entre os tempos e os grupos submetidos à análise estatística não-paramétrica (Friedman e Mann-Whitney) ( $P > 0,05$ ).

A avaliação da frequência respiratória (FR) é apresentada de maneira descritiva em função da dificuldade de mensuração desse parâmetro em 100% dos exames, principalmente em cães do grupo I que apresentavam hiperventilação causada pelo calor. Entre os cães do grupo II, apenas o cão 2 apresentou-se ofegante em vários tempos do exame clínico, a ponto de impossibilitar a contagem da FR. Os demais cães apresentaram valor de FR variável entre os tempos. Os cães 4 e 5 apresentaram FR mais regulares, com variações de 21 a 33 e 21 a 28 mov/min, respectivamente. O cão 1 apresentou FR aumentada em todos os exames no dia do envenenamento, diminuindo a frequência nos três dias seguintes ao envenenamento. Os cães 3 e 6 apresentaram regularidade na FR, mas observou-se valores elevados às 8h; esse aumento, no caso específico desses cães, coincidiu com episódio de espirros que

apresentaram, justificada em parte pelo movimento do animal após 1h sem ser manipulado. A irregularidade global desse parâmetro pode ser explicada, além do calor, pela dor causada pelo veneno. À auscultação, não foram detectados dispnéia, estertores, nem ruídos anormais no fluxo aéreo traqueal e na área pulmonar.

A auscultação cardíaca acusou a presença de arritmia sinusal em 88 dos 108 exames feitos, de maneira semelhante ao que foi observado no experimento-piloto, ocorrendo em todos os cães, sendo mais prevalente nos cães do grupo I. Não houve coincidência entre essas arritmias e os momentos de dor mais intensa dos cães. A frequência cardíaca (FC) não apresentou alteração entre os grupos (Tabela 6). Nenhum dos cães apresentou taquicardia. A avaliação do pulso da artéria femoral, concomitantemente à auscultação cardíaca, indicou normalidade e coerência à FC. A estreita variação observada na FC cardíaca média (88 – 109) indica, em princípio, que não houve estímulos expressivos por parte de neurotransmissores capazes de aumentar ou diminuir a FC. No caso do grupo II, nem mesmo a dor e o estresse influenciaram aumento de FC.

**Tabela 6** – Frequências cardíacas (bat./min) de cães inoculados com placebo (grupo I) e com veneno de *Tityus serrulatus* (grupo II) em diferentes tempos

Tempo	Grupo I	Grupo II
T zero	94,7 ± 14,7	106,5 ± 18,0
T1 – 1h	93,2 ± 14,6	109,0 ± 17,4
T2 – 2h	97,2 ± 16,7	106,5 ± 22,7
T3 – 4h	90,0 ± 7,8	95,5 ± 14,1
T4 – 6h	91,7 ± 12,1	95,2 ± 11,7
T5 – 8h	93,0 ± 12,7	89,3 ± 17,9
T6 – 10h	100,3 ± 14,7	96,0 ± 17,5
T7 – 12h	95,0 ± 13,9	88,7 ± 15,4
T8 – 24h	100,2 ± 19,4	88,0 ± 23,1
T9 – 48h	95,2 ± 13,3	98,5 ± 17,6
T10 – 72h	94,5 ± 13,4	103,7 ± 17,4

Não houve diferença estatisticamente significativa entre os tempos e os grupos submetidos à análise estatística não-paramétrica (Friedman e Mann-Whitney) ( $P > 0,05$ ).



## 5.2.2 – Hemograma

A contagem de hemácias e o volume globular (VG) dos cães dos grupos I e II estão apresentados na Tabela 7. Foi observado no grupo II aumento de 16% no T1, estatisticamente significativo ( $P < 0,05$ ), em relação aos outros tempos, tanto no número de hemácias quanto no VG. No T2, 6h após o envenenamento, esses valores já haviam diminuído, mas ainda eram estatisticamente diferentes do T zero e dos tempos seguintes. Em T3, esses valores já eram semelhantes ao T zero. O grupo I não apresentou diferenças de médias entre os tempos para essas variáveis, mas as contagens de hemácias de T1 e T2 do grupo controle foram estatisticamente menores que

as do grupo envenenado. A concentração de hemoglobina (Tabela 8) apresentou variação muito semelhante, sem alterações no grupo I e aumento de 16% em T1 no grupo II e também diferente do valor de T1 do grupo I ( $P < 0,05$ ). A concentração de hemoglobina também retornou para valores semelhantes aos iniciais 12h após, em T3. Dos seis cães envenenados, três apresentaram aumentos maiores, em T1, no número de hemácias (cão 2:  $8,34 \times 10^6/\mu\text{l}$ ; cão 3:  $8,15 \times 10^6/\mu\text{l}$  e cão 6:  $9,24 \times 10^6/\mu\text{l}$ ), e dois no VG (cão 3: 47% e cão 6: 58%) e na concentração de hemoglobina (cão 3: 16,2 g/dl e cão 6: 20,3 g/dl). Como mostra a Tabela 9, não houve diferenças entre os valores de volume globular médio (VGM), hemoglobina globular média (HGM) e concentração de hemoglobina globular média (CHGM).

**Tabela 7** – Valores médios de hemácias e Volume Globular dos cães inoculados com placebo (grupo I) e com veneno de *Tityus serrulatus* (grupo II) em diferentes tempos.

Tempo	Hemácias ( $\times 10^6/\mu\text{l}$ )		Volume globular (%)	
	Grupo I	Grupo II	Grupo I	Grupo II
T zero	6,54 $\pm$ 0,67 <sup>Aa</sup>	6,42 $\pm$ 0,70 <sup>Abc</sup>	44,1 $\pm$ 3,8 <sup>Aa</sup>	38,5 $\pm$ 4,4 <sup>Bc</sup>
T1 – 2h	6,07 $\pm$ 0,58 <sup>Ba</sup>	7,50 $\pm$ 1,46 <sup>Aa</sup>	40,8 $\pm$ 2,6 <sup>Aa</sup>	45,0 $\pm$ 7,8 <sup>Aa</sup>
T2 – 6h	6,26 $\pm$ 0,66 <sup>Ba</sup>	7,03 $\pm$ 1,22 <sup>Aab</sup>	42,1 $\pm$ 3,4 <sup>Aa</sup>	43,6 $\pm$ 7,2 <sup>Aab</sup>
T3 – 12h	6,19 $\pm$ 0,78 <sup>Aa</sup>	6,45 $\pm$ 1,13 <sup>Abc</sup>	40,8 $\pm$ 2,4 <sup>Aa</sup>	40,1 $\pm$ 5,8 <sup>Abc</sup>
T4 – 24h	6,33 $\pm$ 0,72 <sup>Aa</sup>	5,99 $\pm$ 1,17 <sup>Ac</sup>	42,0 $\pm$ 2,9 <sup>Aa</sup>	37,6 $\pm$ 5,7 <sup>Ac</sup>
T5 – 48h	6,05 $\pm$ 0,43 <sup>Aa</sup>	5,69 $\pm$ 0,89 <sup>Ac</sup>	40,0 $\pm$ 3,8 <sup>Aa</sup>	35,6 $\pm$ 5,1 <sup>Ac</sup>
T6 – 72h	6,40 $\pm$ 0,55 <sup>Aa</sup>	5,74 $\pm$ 0,62 <sup>Ac</sup>	42,8 $\pm$ 4,4 <sup>Aa</sup>	37,0 $\pm$ 3,5 <sup>Ac</sup>

Médias seguidas das mesmas letras maiúsculas não diferem estatisticamente entre os grupos (linhas) e seguidas das mesmas letras minúsculas não diferem estatisticamente entre os tempos (colunas), submetidas à análise de variância e ao teste Tukey, com  $P < 0,05$

**Tabela 8** – Valores médios das concentrações de hemoglobina dos cães inoculados com placebo (grupo I) e com veneno de *Tityus serrulatus* (grupo II) em diferentes tempos.

Tempo	Hemoglobina – g/dl	
	Grupo I	Grupo II
T zero	14,30 $\pm$ 1,47 <sup>Aa</sup>	13,15 $\pm$ 1,88 <sup>AcD</sup>
T1 – 2h	13,30 $\pm$ 1,13 <sup>Ba</sup>	15,25 $\pm$ 3,03 <sup>Aa</sup>
T2 – 6h	14,01 $\pm$ 1,10 <sup>Aa</sup>	14,55 $\pm$ 2,60 <sup>Aab</sup>
T3 – 12h	13,78 $\pm$ 1,19 <sup>Aa</sup>	13,70 $\pm$ 2,22 <sup>Abc</sup>
T4 – 24h	13,58 $\pm$ 1,28 <sup>Aa</sup>	12,55 $\pm$ 1,92 <sup>AcD</sup>
T5 – 48h	13,20 $\pm$ 0,74 <sup>Aa</sup>	12,03 $\pm$ 1,76 <sup>Ad</sup>
T6 – 72h	14,08 $\pm$ 1,35 <sup>Aa</sup>	12,62 $\pm$ 1,29 <sup>AcD</sup>

Médias seguidas das mesmas letras maiúsculas não diferem estatisticamente entre os grupos (linhas) e seguidas das mesmas letras minúsculas não diferem estatisticamente entre os tempos (colunas), submetidas à análise de variância e ao teste Tukey, com  $P < 0,05$ .

**Tabela 9** – Valores médios de Hemoglobina Globular Média, HGM, Volume Globular Médio, VGM e Concentração de Hemoglobina Globular Média, CHGM dos cães inoculados com placebo (grupo I) e com veneno de *Tityus serrulatus* em diferentes tempos.

Tempo	HGM (pg)		VGM (fl)		CHGM (%)	
	Grupo I	Grupo II	Grupo I	Grupo II	Grupo I	Grupo II
T zero	21,8 ± 1,4	20,4 ± 1,8	67,6 ± 3,9	60,1 ± 5,3	32,3 ± 0,7	33,7 ± 2,1
T1 – 2h	22,0 ± 0,9	20,4 ± 1,8	67,5 ± 4,6	60,5 ± 6,4	32,5 ± 1,2	33,7 ± 1,3
T2 – 6h	22,4 ± 0,9	20,7 ± 1,5	67,5 ± 5,2	62,2 ± 3,8	33,2 ± 1,5	33,2 ± 1,3
T3 – 12h	22,3 ± 1,1	21,3 ± 1,6	66,6 ± 7,9	62,6 ± 6,1	33,7 ± 2,7	34,1 ± 2,7
T4 – 24h	21,6 ± 0,8	21,1 ± 1,8	66,6 ± 2,9	63,4 ± 6,9	32,5 ± 1,1	33,3 ± 1,7
T5 – 48h	21,9 ± 1,5	21,2 ± 1,8	66,1 ± 5,0	62,8 ± 4,3	33,1 ± 2,3	33,7 ± 1,8
T6 – 72h	21,9 ± 1,3	21,9 ± 0,7	67,0 ± 6,5	64,5 ± 3,8	32,9 ± 2,2	34,1 ± 2,0

Não houve diferença estatisticamente significativa entre os tempos e os grupos, submetidos à transformação logarítmica e à análise de variância e ao teste Tukey ( $P > 0,05$ ).

Policitemias podem ser relativas ou absolutas e envolvem aumentos nos valores de hemácias, VG e hemoglobina. Volume globular de 50% tornam o sangue mais viscoso, o que dificulta o transporte de oxigênio e quando esse valor ultrapassa 60%, é considerado policitemia. Aumentos agudos nesses valores retornando à normalidade rapidamente, com a correção da causa, caracterizam as policitemias relativas, que podem ser conseqüências de dois mecanismos distintos: (1) diminuição de volume plasmático, causado por desidratação, levando ao aumento do VG, mas não alterando a massa total de eritrócitos circulantes; (2) contração esplênica, após estresse ou dor, com injeção temporária de grande massa de eritrócitos na corrente sanguínea (Jain, 1993).

O veneno de escorpiões não é caracterizado na literatura científica como causador de anemia, hemólise, lesões vasculares ou interferências na medula óssea, de modo que a manutenção da contagem de hemácias, da concentração de hemoglobina e do VG acima dos valores normais para a espécie canina é coerente com esse fato. As alterações apresentadas, provavelmente, por contração esplênica, em função da dor e da ação de catecolaminas sobre o baço. Os cães 2 e 6, os que apresentaram, individualmente, contagens de hemácias e VG altos, foram,

também, os que vomitaram após a inoculação do veneno. O cão 2 vomitou 3,5h após o envenenamento, descartando-se o efeito de diminuição de volume plasmático sobre o VG, nesse caso, pois a maior variação no eritrograma aconteceu em T1, 2h após o envenenamento. O cão 6, no entanto, vomitou 1h após, podendo a desidratação leve (abaixo de 5%, sem manifestação clínica) ter maximizado os efeitos da contração esplênica em T1. No entanto, os valores médios gerais de proteínas totais não sofreram alterações significativas (ver item 5.5). Os cães 2 e 6 também foram os únicos a manifestar dor abdominal, podendo a contração esplênica ter sido uma das causas. O retorno aos valores normais desses parâmetros entre 6 e 12h sugere a cessação dos efeitos do veneno, uma vez que a sua eliminação, em outras espécies já estudadas, é rápida (Santana et al., 1996).

Contração esplênica pode causar aumento no hematócrito em conseqüência ao efeito simpato-adrenal evocado pelo veneno escorpiônico. Andrade et al. (2004), fizeram avaliação completa dos níveis plasmáticos de eletrólitos e do balanço ácido-básico em ratos e observaram aumento significativo de hematócrito 60 minutos após inoculação de veneno de *T. serrulatus*. O efeito da contração esplênica em cães, após o

envenenamento escorpiônico, foi estudado por Tarasiuk e Sofer (1999), sendo impedida por meio de bloqueios de receptores adrenérgicos esplênicos e ligaduras em vasos sanguíneos do baço, demonstrando-se que a contração esplênica ocorre em função do efeito das catecolaminas. Bertazzi et al. (2003) avaliaram a hemocentração, em ratos, após a inoculação de veneno bruto de *T. serrulatus* e de sua toxina mais importante, TsTX-I, e atribuíram sua ocorrência às perdas de líquidos por salivação, lacrimejamento e micção.

A contagem de plaquetas apresentou diferenças estatísticas apenas dentro do grupo controle ( $P < 0,05$ ), porém, todos os valores médios encontrados, que estão na Tabela 10 se enquadram dentro da margem de referência para a espécie canina ( $150 - 500 \times 10^3/\mu\text{l}$ ) de acordo com Jain (1993). A variação encontrada foi muito pequena, caracterizada por diminuição gradativa, até

12h após; provavelmente isso tenha ocorrido em função das coletas de sangue realizadas em intervalos muito curtos.

A agregação plaquetária e a síndrome de coagulação intravascular disseminada em cães foram relatadas no envenenamento escorpiônico por *Centruroides sculpturatus* causada por frações não-neurotóxicas do veneno que estimularam a ativação de PAF, além de possivelmente serem indutoras de uma “Síndrome de Desfibrinação” (Longenecker e Longenecker, 1981). Além disso, sabe-se que a agregação plaquetária pode ser provocada pela adrenalina (El-Asmar, 1984; Dodds, 1997). O presente trabalho não avaliou a hemostasia e a função plaquetária dos cães, mas a contagem estável de plaquetas e os sinais clínicos indicam provavelmente que, nem o veneno de *T. serrulatus*, nem a descarga de catecolaminas causaram agregação, consumo de plaquetas e anormalidades na coagulação sanguínea.

**Tabela 10** – Valores médios de plaquetas dos cães inoculados com placebo (grupo I) e com veneno de *Tityus serrulatus* em diferentes tempos.

Tempo	Plaquetas ( $\times 10^3/\mu\text{l}$ )	
	Grupo I	Grupo II
T zero	296,5 $\pm$ 62,5 <sup>Aa</sup>	233,0 $\pm$ 58,8 <sup>Ba</sup>
T1 – 2h	280,6 $\pm$ 74,1 <sup>Aab</sup>	225,6 $\pm$ 70,5 <sup>Aa</sup>
T2 – 6h	263,6 $\pm$ 76,2 <sup>Aab</sup>	210,5 $\pm$ 44,3 <sup>Aa</sup>
T3 – 12h	220,3 $\pm$ 39,2 <sup>Ab</sup>	253,1 $\pm$ 76,5 <sup>Aa</sup>
T4 – 24h	241,6 $\pm$ 88,5 <sup>Aab</sup>	227,0 $\pm$ 49,0 <sup>Aa</sup>
T5 – 48h	261,0 $\pm$ 47,8 <sup>Aab</sup>	240,6 $\pm$ 53,3 <sup>Aa</sup>
T6 – 72h	270,1 $\pm$ 70,2 <sup>Aab</sup>	222,3 $\pm$ 36,3 <sup>Aa</sup>

Médias seguidas das mesmas letras maiúsculas não diferem estatisticamente entre os grupos (linhas) e seguidas das mesmas letras minúsculas não diferem estatisticamente entre os tempos (colunas), submetidas à análise de variância e ao teste Tukey, com  $P < 0,05$

A contagem de leucócitos totais está representada na Tabela 11. Houve aumento significativo ( $P < 0,05$ ) em T1 e T2 no grupo II. Em T3, o valor já era menor, mas só em T4, 24h após o envenenamento, o número de leucócitos voltou aos valores iniciais. No grupo I não houve diferenças entre os tempos, mas os valores encontrados em T1 e

T2 foram estatisticamente inferiores aos do grupo II. A contagem diferencial dos leucócitos em esfregaços sanguíneos mostrou que o aumento no número de leucócitos totais foi devido, principalmente, ao aumento de neutrófilos e linfócitos (Tabela 12).

**Tabela 11** – Valores médios de leucócitos totais dos inoculados com placebo (grupo I) e com veneno de *Tityus serrulatus* em diferentes tempos.

Tempo	Leucócitos totais (x 10 <sup>3</sup> /μl)	
	Grupo I	Grupo II
T zero	10,80 ± 2,57 <sup>Aa</sup>	10,75 ± 2,73 <sup>Ac</sup>
T1 – 2h	9,88 ± 1,31 <sup>Ba</sup>	17,81 ± 2,68 <sup>Aa</sup>
T2 – 6h	12,23 ± 3,30 <sup>Ba</sup>	18,25 ± 5,46 <sup>Aa</sup>
T3 – 12h	12,19 ± 2,54 <sup>Aa</sup>	15,41 ± 5,58 <sup>Aab</sup>
T4 – 24h	9,76 ± 2,00 <sup>Aa</sup>	12,02 ± 5,09 <sup>Abc</sup>
T5 – 48h	10,30 ± 2,46 <sup>Aa</sup>	11,64 ± 4,95 <sup>Ac</sup>
T6 – 72h	11,13 ± 1,93 <sup>Aa</sup>	11,99 ± 3,85 <sup>Abc</sup>

Médias seguidas das mesmas letras maiúsculas não diferem estatisticamente entre os grupos (linhas) e seguidas das mesmas letras minúsculas não diferem estatisticamente entre os tempos (colunas), submetidas à transformação logarítmica e à análise de variância e ao teste Tukey, com P<0,05.

**Tabela 12** – Valores médios de neutrófilos e linfócitos dos cães inoculados com placebo (grupo I) e com veneno de *Tityus serrulatus* em diferentes tempos.

Tempo	Neutrófilos (x 10 <sup>3</sup> /μl)		Linfócitos (x 10 <sup>3</sup> /μl)	
	Grupo I	Grupo II	Grupo I	Grupo II
T zero	7,72 ± 2,15 <sup>Aa</sup>	7,38 ± 1,91 <sup>Ac</sup>	1,48 ± 0,57 <sup>Aa</sup>	1,96 ± 1,20 <sup>Aab</sup>
T1 – 2h	6,80 ± 0,96 <sup>Ba</sup>	12,92 ± 2,00 <sup>Aa</sup>	1,44 ± 0,59 <sup>Ba</sup>	2,89 ± 1,29 <sup>Aa</sup>
T2 – 6h	8,97 ± 2,57 <sup>Ba</sup>	14,38 ± 5,00 <sup>Aa</sup>	1,38 ± 0,31 <sup>Aa</sup>	2,18 ± 0,88 <sup>Aab</sup>
T3 – 12h	8,84 ± 1,98 <sup>Aa</sup>	11,95 ± 4,59 <sup>Aab</sup>	1,55 ± 0,36 <sup>Aa</sup>	1,76 ± 0,77 <sup>Ab</sup>
T4 – 24h	6,79 ± 1,42 <sup>Aa</sup>	8,96 ± 3,62 <sup>Abc</sup>	1,38 ± 0,62 <sup>Aa</sup>	1,67 ± 1,11 <sup>Ab</sup>
T5 – 48h	6,78 ± 2,10 <sup>Aa</sup>	8,26 ± 2,89 <sup>Ac</sup>	1,52 ± 0,51 <sup>Aa</sup>	2,02 ± 1,86 <sup>Ab</sup>
T6 – 72h	7,35 ± 2,14 <sup>Aa</sup>	8,76 ± 2,44 <sup>Abc</sup>	1,91 ± 0,90 <sup>Aa</sup>	1,50 ± 0,87 <sup>Ab</sup>

Médias seguidas das mesmas letras maiúsculas não diferem estatisticamente entre os grupos (linhas) e seguidas das mesmas letras minúsculas não diferem estatisticamente entre os tempos (colunas), submetidas à transformação logarítmica e à análise de variância e ao teste Tukey, com P<0,05.

De maneira semelhante à contagem de leucócitos totais, a contagem de neutrófilos não apresentou diferenças no grupo I, mas foi estatisticamente maior (P<0,05) no grupo II em T1 e T2. Em T3 o valor médio diminuiu, mas só em T4 voltou a ser semelhante ao valor inicial. O número de linfócitos apresentou, no grupo II, o maior valor em T1, diferente estatisticamente do valor do mesmo tempo no grupo I. Porém, em nenhum dos tempos houve contagem média diferente da contagem do T zero.

Os coeficientes de variação (CV) ficaram acima de 40% no grupo II, em T4 e T5 para a contagem de leucócitos e em todos os tempos para a contagem de linfócitos. Isso

ocorreu devido às variações individuais entre os cães do grupo II (Tabela 13).

Na contagem de neutrófilos não foram encontradas células jovens em diversos esfregaços, tanto no grupo I quanto no II. Esse fato, aliado à rapidez com que o número médio de neutrófilos se elevou (2h) e retornou ao valor inicial (24h) indicam que a leucocitose foi fisiológica. Nos cães, o compartimento marginal dos vasos sanguíneos é igual ao compartimento circulante. A liberação súbita de neutrófilos desse compartimento ocorre após as refeições, na gestação, após exercícios intensos ou prolongados, vômitos, convulsões e no estresse, por mediação de

catecolaminas (Jain, 1993). A leucocitose com neutrofilia é relatada em diversos acidentes escorpionicos com humanos (Bucarechi et al., 1995; Cupo e Hering, 2002; Cupo et al., 2003) e em cães (Cordeiro et al., 2006). Os resultados deste experimento indicam neutrofilia causada pela dor e pelo estresse, e pelo efeito neurotóxico do veneno de *T. serrulatus*, pois

ambos causam a liberação de catecolaminas. O retorno gradativo aos valores iniciais entre 6h e 12h é condizente com o fim do período de manifestação de dor nos cães, e com a eliminação do veneno circulante, que possivelmente seja rápida, como é em ratos (Santana et al., 1996).

**Tabela 13** - Valores de leucócitos totais e neutrófilos dos cães do grupo II inoculados com veneno de *Tityus serrulatus* em diferentes tempos

	LT	N	LT	N	LT	N	LT	N	LT	N	LT	N
T zero	13,4	8,0	8,5	5,9	6,7	4,7	11,0	8,8	13,8	9,9	11,0	6,8
T1 – 2h	20,9	14,6	17,7	12,9	15,1	10,5	18,3	14,2	14,4	10,3	20,5	14,7
T2 – 6h	23,7	20,1	14,1	11,1	12,4	9,0	20,5	16,8	13,9	9,7	24,9	19,4
T3 – 12h	21,2	16,9	12,8	9,8	8,5	6,5	19,6	15,4	10,2	7,3	20,2	15,5
T4 – 24h	18,3	13,1	8,6	6,6	6,8	4,9	11,2	8,6	8,8	6,7	18,4	13,6
T5 – 48h	19,8	12,6	7,7	5,8	6,6	4,7	10,0	7,8	10,6	8,2	15,1	10,2
T6 – 72h	17,9	12,1	8,46	6,4	7,9	5,9	14,0	10,6	10,1	7,8	13,6	9,5

LT – Leucócitos totais; N – Neutrófilos

O aumento de linfócitos apresentado no grupo II (Tabela 12), apesar de ter sido menos intenso, pode ter sido, também, devido ao efeito neurotóxico do veneno, causando vasoconstrição também na circulação linfática. Uma proliferação gradativa poderia ter ocorrido em resposta do sistema imunológico dos cães aos antígenos do veneno, após as 72h. Porém, os valores apresentados pelo cão 1 já às 48h, e que foram concomitantes com a neutrofilia, sugerem reação inflamatória e imunológica, provavelmente com aumento no nível de citocinas pró-inflamatórias, como IL-1, IL-2 e IL-6, interleucinas já relatadas como atuantes na SEE (Sofer et al., 1996; Meki e Eldean, 1998; Magalhães et al., 1999; Petricevich e Peña, 2002; D'Suze et al., 2003; Fukuhara et al., 2003; Petrievich et al., 2007. No entanto, as características do leucograma, a discreta reação no local da aplicação do veneno, e a ausência de sinais clínicos sugestivos, como febre, lesões

inflamatórias e edema pulmonar, indicam que os cães não apresentaram reações inflamatórias intensas.

Não foram encontrados basófilos nos esfregaços sanguíneos. As contagens médias de monócitos e eosinófilos (Tabela 14) não apresentaram diferenças estatísticas ( $P > 0,05$ ). Aumentos de monócitos são esperados, principalmente em inflamações crônicas, enquanto que eosinofilia ocorre em doenças alérgicas e nos processos de hipersensibilização (Jain, 1993). O cão 6 não apresentou aumentos individuais de eosinófilos ( $0,3 - 1,3 \times 10^3/\mu\text{l}$ ) embora tenha manifestado sinais clínicos agudos de hipersensibilidade 1h após a inoculação do veneno. O cão 1 apresentou aumentos súbitos de  $0,1 \times 10^3/\mu\text{l}$  em T3 (12h) e T5 (48h) para  $1,0 \times 10^3/\mu\text{l}$  em T4 (24h) e  $1,2 \times 10^3/\mu\text{l}$  em T6 (72h), reforçando a possibilidade de ter ocorrido reações inflamatórias.

**Tabela 14** – Valores médios de monócitos e eosinófilos dos cães inoculados com placebo (grupo I) e com veneno de *Tityus serrulatus* em diferentes tempos.

Tempo	Monócitos (x 10 <sup>3</sup> /μl)		Eosinófilos (x 10 <sup>3</sup> /μl)	
	Grupo I	Grupo II	Grupo I	Grupo II
T zero	0,63 ± 0,26	0,66 ± 0,28	0,96 ± 0,41	0,70 ± 0,51
T1 – 2h	0,62 ± 0,18	1,03 ± 0,46	1,00 ± 0,74	0,98 ± 0,66
T2 – 6h	0,81 ± 0,27	0,81 ± 0,37	1,05 ± 0,57	0,88 ± 0,66
T3 – 12h	0,76 ± 0,33	0,86 ± 0,54	1,02 ± 0,59	0,87 ± 0,57
T4 – 24h	0,68 ± 0,30	0,76 ± 0,56	0,89 ± 0,24	0,67 ± 0,27
T5 – 48h	0,89 ± 0,50	0,49 ± 0,36	1,09 ± 0,58	0,65 ± 0,41
T6 – 72h	0,78 ± 0,29	0,80 ± 0,46	1,07 ± 0,27	0,96 ± 0,35

Não houve diferença estatisticamente significativa entre os tempos e os grupos, submetidos à transformação logarítmica (monócitos) e à análise de variância e ao teste Tukey (P>0,05).

### 5.2.3 – Urinálise

O exame físico da urina não acusou diferenças entre os cães dos grupos I e II. A cor apresentou discretas variações entre o amarelo e o amarelo escuro. O aspecto “límpido” foi observado na maioria dos exames, embora as classificações “discretamente turvo” e “turvo” tenham ocorrido esporadicamente. Odor *sui generis* foi apresentado em todos os exames. A densidade urinária média não apresentou diferenças entre os tempos e os grupos (P<0,05), variando entre 1.047 e 1.055 no grupo I e 1.050 a 1.059 no grupo II. Esses valores de densidade são maiores que a margem de referência para a espécie canina (1.015 – 1.045) (Stockham e Scott, 2002) e não indicam alteração na capacidade renal de concentração de urina frente ao envenenamento escorpiónico, por serem semelhantes entre os grupos e por estarem elevados mesmo no T zero, sugerindo apenas discreta desidratação, diminuição de ingestão de água ou influência de dieta protéica, razões que aumentam concentração urinária. O veneno de *T. serrulatus* pode causar diminuição da taxa de filtração glomerular e do fluxo urinário, em ratos, devido à vasoconstricção de arteríolas renais (Alves et al., 2005), fator que colaboraria

também para a concentração urinária, porém, não conclusivo neste trabalho.

Os valores médios de pH urinário foram semelhantes estatisticamente (P<0,05). O grupo II apresentou valores médios entre 6,0 e 6,83, sendo ligeiramente menores que o grupo I (entre 6,75 e 7,08). As fitas reativas do exame químico indicaram, ainda, ausência de corpos cetônicos em todos os exames, nível de urobilinogênio normal e presença discreta de proteínas, bilirrubina e sangue oculto em várias amostras, de forma semelhante entre os dois grupos de cães.

Alterações detectáveis na urinálise em decorrência de envenenamento escorpiónico são raras na literatura consultada, e tendem a focar apenas alterações presentes em quadros clínicos graves, como glicosúria e mioglobínúria (Cupo et al., 2003; Melo et al., 2004b). Alterações de pH urinário, que não foram encontradas neste trabalho, poderiam refletir os efeitos sobre o equilíbrio ácido-básico e a reação do organismo com mecanismos compensatórios, uma vez que na SEE podem ocorrer tanto a acidose, em decorrência de hipóxia tissular e da “Síndrome do Déficit de Energia” (Murthy e Hase, 1994), quanto à alcalose, devido a perdas de íon H<sup>+</sup> por

vômitos e à hiperventilação nas dispnéias e taquipnéias (El-Asmar, 1984; Ismail et al., 1995; Magalhães et al., 2000; Andrade et al., 2004). Os rins desempenham papel homeostático importante nos desequilíbrios iônicos e ácido-básicos por regularem a excreção de íons H<sup>+</sup>, carbonato (HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>) e eletrólitos (Guyton, 1996).

No exame químico, foi constatada glicosúria na amostra do cão 6, em T1 (8h). A urina foi submetida à dosagem de glicose por método colorimétrico cinético<sup>41</sup> em aparelho analisador bioquímico<sup>42</sup>, o mesmo usado para a determinação da glicemia neste trabalho. O valor encontrado foi 191mg/dl. O cão 6 apresentou valores plasmáticos de glicose de 292mg/dl em T1 (2h) e 82mg/dl em T2 (6h). Normalmente não se detecta glicose na urina, pois toda a glicose filtrada nos glomérulos é absorvida nos túbulos e a pequena quantidade excedida desses processos é indetectável. Glicosúria ocorre quando a capacidade máxima de reabsorção dos túbulos renais é excedida, seja por aumentos na glicemia, por lesões ou patologias renais que aumentem a filtração de glicose ou diminuam a absorção. Geralmente ocorre glicosúria quando a glicemia é maior que 10mmol/l (180mg/dl) (Finco, 1997). A única observação de glicosúria aconteceu após o cão 6 ter apresentado a maior concentração de glicemia do grupo envenenado (292mg/dl, em T1), que superou a capacidade máxima de reabsorção tubular renal.

O exame microscópico do sedimento revelou, em várias amostras a presença de hemácias e leucócitos nos dois grupos de cães, inclusive com “campos repletos”. Presença de bactérias, células epiteliais, cilindros hialinos e granulados e cristais (fosfato amoníaco magnésiano, fosfato

amorfo, bilirrubina e oxalato de cálcio) foram encontrados esporadicamente nos dois grupos de cães.

O método de coleta da urina, por cateterismo, justifica a presença de hemácias, leucócitos e sangue oculto em várias amostras, e sem distinção entre os grupos. A densidade média apresentada pela urina é compatível com a presença de proteínas e bilirrubina, bem como com o aspecto turvo apresentado por algumas amostras, sendo que a proteinúria e a bilirrubinúria não foram persistentes em nenhum dos animais. Portanto, a urinálise realizada indicou, de acordo com seus parâmetros, que a função renal dos cães não sofreu alterações após o envenenamento escorpiônico.

#### 5.2.4 – Bioquímica sérica

Os resultados da dosagem de uréia e creatinina, apresentados na Tabela 15, complementam a avaliação da função renal feita pela urinálise. Não houve diferença estatística (P<0,05) entre os tempos de avaliação e entre os grupos I e II.

A elevação da uréia sanguínea está relacionada a mecanismos renais e extra-renais. Por ser originária do metabolismo hepático de proteínas, o catabolismo tecidual devido a febre, exercícios, inanição, uso de corticóides, assim como o aumento na ingestão de proteínas podem levar ao aumento de sua produção. A desidratação e a diminuição da função cardíaca, por sua vez, diminuem a sua excreção renal. A uréia é livremente filtrada pelos glomérulos renais, tendo a mesma concentração plasmática no filtrado glomerular e é passivamente reabsorvida pelos túbulos renais. Por esse motivo, a uréia não é, por si só, um bom meio de avaliação da função renal. A creatinina é oriunda da degradação de creatina, que por sua vez é produzida no

<sup>41</sup> SYNERMED® - Synermed International Inc., Westfield, EUA

<sup>42</sup> Cobas Mira –Roche – GMI, Global Medical Instrumentations, Inc. – Ramsey, EUA

fígado, a partir do aminoácido metionina e de acetato de guanidina. Liberada no plasma, a creatina é estocada nos músculos esqueléticos, onde constitui reserva de energia na forma de fosfocreatina. A degradação espontânea de creatina nos músculos com liberação de creatinina no sangue é um processo contínuo. A concentração de creatinina no sangue depende pouco da ingestão de carne, mas pode ser aumentado em função da massa

muscular do animal, de lesões musculares e do esforço físico. Assim como a uréia, a creatinina é livremente filtrada pelos glomérulos renais, sendo a sua concentração no filtrado a mesma do plasma, porém, não é reabsorvida pelos túbulos renais. Portanto, doenças renais que diminuam a função renal glomerular são identificadas por aumentos de creatinina, e posteriormente de uréia (Finco, 1997).

**Tabela 15** – Valores séricos médios de uréia e creatinina de cães inoculados com placebo (grupo I) e com veneno de *T. serrulatus* (grupo II) em diferentes tempos

Tempo	Uréia (mg/dl)		Creatinina (mg/dl)	
	Grupo I	Grupo II	Grupo I	Grupo II
T zero	39,2 ± 10,5	31,3 ± 9,6	1,03 ± 0,25	0,85 ± 0,45
T1 – 2h	33,8 ± 2,4	33,3 ± 10,4	0,90 ± 0,27	0,87 ± 0,43
T2 – 6h	34,3 ± 6,3	33,3 ± 8,6	0,90 ± 0,32	0,80 ± 0,37
T3 – 12h	37,3 ± 10,0	29,5 ± 9,4	0,97 ± 0,25	0,82 ± 0,40
T4 – 24h	34,0 ± 7,4	25,0 ± 10,8	0,88 ± 0,26	0,65 ± 0,25
T5 – 48h	28,7 ± 3,8	30,8 ± 9,8	0,82 ± 0,24	0,78 ± 0,20
T6 – 72h	38,0 ± 7,5	28,7 ± 8,9	1,05 ± 0,42	0,77 ± 0,15

Não houve diferença estatisticamente significativa entre os tempos e os grupos, submetidos à transformação logarítmica (creatinina) e à análise de variância e ao teste Tukey ( $P > 0,05$ ).

Estudos em ratos mostraram que o veneno de escorpiões distribui-se rapidamente do sangue para os tecidos, e os rins são os órgãos que apresentam altas concentrações de toxinas cerca de 15 min após a inoculação (Ismail e Abd-Elsalam, 1988; Santana et al., 1996; Nunan et al., 2003, 2004). Esses achados são condizentes com resultados de experimentos e relatos clínicos de pacientes que apresentaram falência renal aguda, aumento de uréia e ácido úrico, diminuição do volume urinário e diminuição da excreção de creatinina após envenenamentos envolvendo escorpiões dos gêneros *Androctonus*, *Leiurus*, e *Buthus* (Ismail e Abd-Elsalam, 1988). Quanto ao veneno de *T. serrulatus*, há relato, em ratos, de congestão e hemorragia renais (Corrêa et al., 1997) e de aumento da pressão de perfusão, diminuição da taxa de filtração glomerular e do fluxo urinário, deposição de

proteína nos túbulos renais e edema renal por aumento de pressão hidrostática (Alves et al., 2005). A regularidade na excreção de uréia e creatinina dos cães deste trabalho evidenciada por suas concentrações plasmáticas normais indicam, junto com a urinálise, que o veneno de *T. serrulatus* não alterou a função renal dos cães até 72h após a inoculação do veneno.

As concentrações de potássio dentro da normalidade e sem diferenças entre os grupos, conforme apresentado na Tabela 16, indicam que não houve desequilíbrio hidroeletrólítico como consequência do envenenamento escorpiônico.

Perdas de potássio em decorrência de vômitos, sialorréia e diarréia ocorrem em envenenamentos escorpiônicos humanos (Cupo et al., 1994, 2003; Bucarechi et al.,



1995) e poderiam justificar os valores menores encontrados do grupo II quando comparados aos do grupo I, apesar de semelhantes estatisticamente.. Porém, a concentração média de potássio do grupo II foi mais baixa que a do grupo I desde o T zero, além de não terem ocorrido episódios de diarreia entre os cães envenenados.

**Tabela 16** - Valores séricos médios de potássio de cães inoculados com placebo (grupo I) e com veneno de *T. serrulatus* (grupo II) em diferentes tempos.

Tempo	Potássio (mmol/l)	
	Grupo I	Grupo II
T zero	3,84 ± 1,38	2,86 ± 0,64
T1 – 2h	4,46 ± 0,89	2,68 ± 1,10
T2 – 6h	4,87 ± 1,37	2,97 ± 0,93
T3 – 12h	4,36 ± 0,64	3,20 ± 0,98
T4 – 24h	4,27 ± 0,83	3,59 ± 1,38
T5 – 48h	4,14 ± 0,60	2,75 ± 0,30
T6 – 72h	4,36 ± 0,65	2,83 ± 0,61

Não houve diferença estatisticamente significativa entre os tempos e os grupos, submetidos à análise de variância e ao teste Tukey (P>0,05).

Por ser um íon demarcadamente intracelular (98% do potássio corporal se encontram dentro das células), o potássio é um indicador de lesões tissulares e necroses, devido a sua liberação para o compartimento extracelular (Carlson, 1997). A inalteração de sua concentração plasmática nos cães, após o envenenamento, é condizente com a ausência característica de lesões extensas no envenenamento escorpionico.

A manutenção da concentração de potássio no sangue é dependente da dieta, já que a sua conservação renal não é eficiente, haja vista o complexo sistema renina-angiotensina-aldosterona, desenvolvido para reter sódio no organismo quando há diminuição de pressão sangüínea, à custa da excreção de potássio (Carlson, 1997; Cunningham, 2004). A liberação de

catecolaminas após o envenenamento dos cães deste trabalho pode ter contribuído para a inibição desse sistema em função da ocorrência de hipertensão arterial, impedindo a excreção de potássio. A concentração deste íon é ainda alterada em casos de acidose metabólica, em que um mecanismo compensatório renal retém íons potássio para excretar íons H<sup>+</sup> em excesso (Guyton, 1996, Cunningham, 2004). A ausência de hipercalemia neste trabalho é um indício da normalidade do equilíbrio ácido-básico dos cães após a inoculação do veneno de *T. serrulatus*.

Por fim, outros efeitos do envenenamento escorpionico que poderiam ter sido consequência da alteração nos níveis de potássio parecem não ter atuado, ou pelo menos, não ter sido significantes durante o envenenamento dos cães. O efeito neurotóxico do veneno bloqueia os canais de potássio e causa seu acúmulo no meio extracelular e o efluxo de potássio para dentro dos hepatócitos é causado por catecolaminas e por inibição de insulina (El-Asmar, 1984; Ismail et al., 1995).

As concentrações de proteínas totais (PT), albumina e a relação albumina/globulina (A/G) estão representadas na Tabela 17. Não houve diferença estatística de PT entre os tempos e entre os grupos I e II (P>0,05) e os valores médios encontrados estão dentro da margem de referência para cães (5,4 – 7,7g/dl) (Jain, 1993). Não houve alterações nas concentrações de albumina e nas relações albumina/globulina (A/G). A relação A/G, no entanto, foi ligeiramente menor no grupo II, em todos os tempos, se comparados ao grupo I e está relacionada aos valores maiores de  $\gamma$ -globulinas dos animais envenenados (Tabela 18).

Ismail e Abd-Elsalam (1988) relataram um aumento de PT em cobaias 1h após a aplicação de veneno de *Leiurus quinquestriatus*, *Androctonus amoreuxi* e *Buthotus judaicus* em função de

hemoconcentração e diminuição após 4h, por aumento de permeabilidade renal. Neste trabalho não houve alteração semelhante, reforçando a ausência de alterações renais e também indicando que não houve desidratação.

A Tabelas 18 mostra os valores médios obtidos de albumina e globulinas alfa ( $\alpha$ ), beta ( $\beta$ ) e gama ( $\gamma$ ). Não houve diferenças estatísticas ( $P>0,05$ ) entre tempos e grupos.

**Tabela 17** – Valores séricos médios de proteínas, albumina e relação albumina/globulina (A/G) de cães inoculados com placebo (grupo I) e com veneno de *T. serrulatus* (grupo II) em diferentes tempos.

Tempo	Proteínas Totais (g/dl)		Albumina (g/dl)		Relação A/G	
	Grupo I	Grupo II	Grupo I	Grupo II	Grupo I	Grupo II
T zero	6,22 ± 0,75	7,08 ± 0,95	2,99 ± 0,49	2,89 ± 0,72	1,03 ± 0,40	0,73 ± 0,27
T1 – 2h	5,95 ± 0,83	7,10 ± 1,06	2,95 ± 0,57	2,80 ± 0,59	1,20 ± 0,70	0,69 ± 0,24
T2 – 6h	6,32 ± 0,76	7,22 ± 1,17	2,96 ± 0,55	2,98 ± 0,61	1,02 ± 0,52	0,76 ± 0,29
T3 – 12h	6,20 ± 0,70	7,12 ± 0,94	2,90 ± 0,68	2,94 ± 0,54	1,10 ± 0,76	0,75 ± 0,25
T4 – 24h	6,10 ± 0,72	6,95 ± 0,91	3,03 ± 0,38	2,71 ± 0,46	1,06 ± 0,36	0,65 ± 0,14
T5 – 48h	5,82 ± 0,30	6,90 ± 1,56	2,92 ± 0,62	2,57 ± 0,27	1,01 ± 0,48	0,63 ± 0,15
T6 – 72h	6,23 ± 0,77	6,97 ± 1,47	2,87 ± 0,46	2,65 ± 0,42	0,98 ± 0,49	0,63 ± 0,11

Não houve diferença estatisticamente significativa entre os tempos e os grupos, submetidos à transformação logarítmica e à análise de variância e ao teste Tukey, com  $P>0,05$ .

**Tabela 18** – Valores séricos médios de globulinas alfa, beta e gama de cães inoculados com placebo (grupo I) e inoculados com veneno de *T. serrulatus* (grupo II) em diferentes tempos

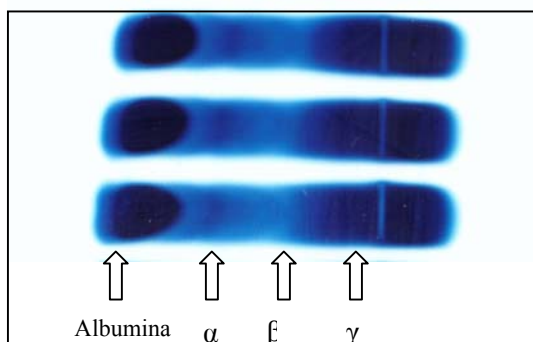
Tempo	Alfa (g/dl)		Beta (g/dl)		Gama (g/dl)	
	Grupo I	Grupo II	Grupo I	Grupo II	Grupo I	Grupo II
T zero	0,71 ± 0,22	0,70 ± 0,17	0,62 ± 0,18	0,49 ± 0,29	1,88 ± 0,78	2,99 ± 0,70
T1 – 2h	0,65 ± 0,29	0,84 ± 0,20	0,48 ± 0,23	0,57 ± 0,10	1,85 ± 0,84	2,87 ± 0,89
T2 – 6h	0,69 ± 0,28	0,78 ± 0,14	0,51 ± 0,13	0,47 ± 0,23	2,14 ± 0,95	2,97 ± 0,98
T3 – 12h	0,65 ± 0,30	0,74 ± 0,25	0,49 ± 0,28	0,50 ± 0,17	2,11 ± 0,96	2,92 ± 0,78
T4 – 24h	0,66 ± 0,15	0,79 ± 0,30	0,46 ± 0,14	0,62 ± 0,28	1,81 ± 0,99	2,81 ± 0,74
T5 – 48h	0,65 ± 0,18	0,79 ± 0,14	0,52 ± 0,34	0,46 ± 0,19	1,91 ± 0,71	3,06 ± 1,45
T6 – 72h	0,74 ± 0,18	0,70 ± 0,15	0,51 ± 0,27	0,51 ± 0,31	2,10 ± 1,04	3,08 ± 1,29

Não houve diferença estatisticamente significativa entre os tempos e os grupos, submetidos à transformação logarítmica e à análise de variância e ao teste Tukey ( $P>0,05$ ).

As proteínas plasmáticas podem ser separadas por eletroforese em duas frações principais: albumina e globulinas (Figura 17). A albumina, também conhecida como soroalbumina, é a mais abundante das proteínas séricas, é produzida pelo fígado e corresponde, em animais, a 35 a 50% do total de proteínas do plasma. Suas principais funções são a ligação e transporte de proteínas no sangue, solubilização de compostos insolúveis ou parcialmente

solúveis e atividade osmótica (Naoum, 1990; Kaneko, 1997b). A fração globulínica é uma mistura muito complexa de proteínas, sendo dividida em três sub-frações:  $\alpha$ ,  $\beta$  e  $\gamma$ . Todas as proteínas dessa fração são produzidas no fígado, à exceção das  $\gamma$ -globulinas, que são produzidas por linfócitos. Sob influência de IL-1, TNF- $\alpha$ , e, especialmente, IL-6, o fígado aumenta a produção de certas proteínas plasmáticas em resposta a uma variedade de estresses como

inflamações, infecções bacterianas, radiações, intoxicações e isquemia. Esta síntese de proteínas está associada com infecções e inflamações agudas. Sua resposta começa dentro de poucas horas após a injúria e declina dentro de 24 a 48h, sendo, assim, chamadas de *proteínas de fase aguda* aquelas cuja produção é muito aumentada nessas situações, como  $\alpha_1$ -antitripsina, haptoglobina, ceruloplasmina,  $\alpha_2$ -macroglobulina, fibrinogênio, C3 do complemento e a proteína C reativa, a maior proteína de fase aguda em cães e outras espécies (Tizard, 2002; Silva et al., 2005). Do ponto de vista prático é mais fácil e confiável medir a concentração sérica das proteínas de fase aguda, que se elevam rapidamente em diversas situações de estresse do organismo, do que mediadores inflamatórios, como as citocinas, que apresentam meia vida muito curta e necessitam de métodos sofisticados para sua dosagem (Silva et al., 2005).



**Figura 17** – Separação eletroforética das proteínas do soro do cão 2 em filmes de agarose. Da esquerda para a direita distinguem-se as bandas em albumina,  $\alpha$ ,  $\beta$  e  $\gamma$  globulinas

Bertazzi et al. (2003), avaliando os efeitos de veneno bruto de *T. serrulatus* e de sua toxina TsTX-I sobre as vias clássica e alternativa do sistema complemento de ratos, *in vivo*, observaram aumentos expressivos em sua atividade, e relacionaram-nos ao aumento de

interleucinas e à produção hepática das proteínas de fase aguda. Diferentemente, as globulinas plasmáticas dos cães, neste trabalho, não apresentaram alterações entre os grupos I e II. Este fato reforça a possibilidade de a leucocitose ocorrida 2 e 6h após o envenenamento ser decorrente ao efeito das catecolaminas sobre o compartimento marginal de leucócitos dos vasos e exclui o estímulo à produção de citocinas e proteínas de fase aguda hepáticas frente aos antígenos do veneno. As concentrações médias de  $\gamma$ -globulinas dos cães do grupo II foram substancialmente maiores que as do grupo I, mas isso se deveu a variação individual do cão 4, que apresentou os maiores valores de  $\gamma$ -globulinas (4,08 a 5,8 g/dl).

A concentração de alanina aminotransferase (ALT) (Tabela 19) não apresentou diferença estatística entre tempos e grupos ( $P < 0,05$ ). Porém, no grupo II, em T1 e T2 houve aumentos de 60% e 75%, respectivamente, em relação ao T zero. O valor de T2 (89,7 U/l) ultrapassa a margem de referência para cães (10 – 88 U/l), segundo Jain (1993).

**Tabela 19** - Valores séricos de ALT de cães inoculados com placebo (grupo I) e com veneno de *T. serrulatus* (grupo II) em diferentes tempos

Tempo	ALT (U/l)	
	Grupo I	Grupo II
T zero	55,0 ± 25,2	51,7 ± 17,5
T1 – 2h	50,3 ± 15,1	83,2 ± 56,37
T2 – 6h	57,5 ± 27,5	89,7 ± 55,65
T3 – 12h	55,2 ± 19,8	70,3 ± 43,6
T4 – 24h	43,8 ± 15,2	60,8 ± 34,1
T5 – 48h	47,8 ± 20,2	56,8 ± 30,2
T6 – 72h	46,7 ± 23,5	51,7 ± 22,5

Não houve diferença estatisticamente significativa entre os tempos e os grupos, submetidos à transformação logarítmica e à análise de variância e ao teste Tukey ( $P > 0,05$ ).

Pelos valores individuais, constata-se que os cães 2 e 6 apresentaram os maiores valores de ALT nos tempos T1 (122 e 115 U/l) e T2 (178 e 185 U/l) (Tabela 20).

**Tabela 20** – Valores séricos de ALT (U/l) de cães inoculados com veneno de *Tityus serrulatus* (grupo II) em diferentes tempos

	Cão 1	Cão 2	Cão 3	Cão 4	Cão 5	Cão 6
T zero	20	63	44	55	60	68
T1 – 2h	24	122	54	58	63	178
T2 – 6h	23	115	59	85	71	185
T3 – 12h	26	89	46	56	56	149
T4 – 24h	27	67	44	46	56	125
T5 – 48h	18	50	41	75	51	106
T6 – 72h	18	48	48	79	42	75

O cão 6 apresentou aumento, ainda, em T3 (149 U/l) e T4 (125 U/l). Esses valores resultaram em altos coeficientes de variação observados entre T1 e T5 no grupo II (53% a 67%). Os dois cães foram os únicos que manifestaram dor abdominal à palpação, conforme já discutido anteriormente, fazendo-se supor que a dor abdominal possa ter tido, também, origem hepática.

A ALT é uma enzima de hepatócitos, em cães, responsável pela catalisação da transaminação de L-alanina e 2-oxaloglutarato formando piruvato e glutamato. Apresenta alta concentração citoplasmática e aumenta rapidamente em decorrência de lesões ou aumento de permeabilidade em hepatócitos. Tem meia vida de 2,5 dias em cães e sua utilidade clínica maior é identificação de lesões hepatocelulares, em que sua elevação é imediata, enquanto em processos colestatísticos seu aumento é menor e gradual. O aumento de ALT está relacionado ao número de células envolvidas, ou seja, com a extensão, e não com a gravidade da lesão, sendo que mesmo uma lesão que não cause morte celular pode levar à liberação da enzima na corrente sanguínea (Willard et al., 1993; Kramer e Hoffmann, 1997; Tennant, 1997).

O estudo farmacocinético da distribuição do veneno de *T. serrulatus* no organismo de ratos mostra que os maiores níveis de veneno são encontrados no fígado 15 min após a inoculação (Nunan et al., 2003, 2004). A transformação hepática das toxinas do

veneno escorpiónico em metabólitos ativos e tóxicos não é relatada (Ismail e Abd-El salam, 1988). A literatura consultada não relata atividade hepatotóxica do veneno de nenhuma espécie de escorpião, nem a atuação de suas toxinas sobre canais iônicos de hepatócitos, a exemplo do que acontece com neurônios e outras células. Relatos médicos não citam a dosagem de ALT de pacientes, provavelmente pela ausência de sinais de doenças hepáticas, uma vez que os sinais do envenenamento escorpiónico aparecem muito rapidamente.

As enzimas aspartato aminotransferase (AST), lactato desidrogenase (LDH) e cretina quinase (CK), foram dosadas, para investigar presença de lesões musculares. A Tabela 21 apresenta as concentrações de AST e LDH dos grupos I e II. Não houve diferença estatística entre os valores de LDH apresentados, tanto entre os tempos, quanto entre os grupos. Os níveis de AST apresentaram aumento estatisticamente significativo ( $P < 0,05$ ) no grupo II em T1 e T2. Em T4 os valores médios começaram a diminuir e a partir de T5 voltaram a ser semelhantes ao encontrado no Tzero. Os cães 2 e 6, apresentaram os maiores aumentos de AST em T1 (85U/l e 86U/l) e T2 (85 U/l e 76U/l), nos mesmo tempos em que apresentaram os maiores aumentos de ALT, dentre os cães do grupo envenenado (Tabela 22).

A AST catalisa a transaminação de L-aspartato e 2-oxoglutarato formando oxaloacetato e glutamato. É uma enzima

presente em grandes quantidades nos músculos esqueléticos, coração, rins, cérebro, eritrócitos e hepatócitos. Em cães tem baixa concentração citoplasmática, mas está presente em mitocôndrias, e, por isso, aumentam-se os níveis quando de lesões acentuadas, com necrose. Sua meia-vida é de 5 a 12h, sendo assim um bom índice para a avaliação da resolução de lesões hepatocelulares. A enzima LDH catalisa a oxidação reversível de piruvato a L(+)

lactato e tem várias isoenzimas, presentes nos eritrócitos, hepatócitos, músculos e miocárdio (LDH - 1). Lesões, tissulares, portanto, tendem a induzir aumentos nos níveis dessa enzima. LDH foi o primeiro marcador com perfil de isoenzimas utilizado na Medicina Veterinária para detectar lesões específicas, porém, apresenta pouca especificidade, tendo o seu uso substituído por outras enzimas, como a CK (Kramer e Hoffmann,1997)

**Tabela 21** – Valores séricos de LDH e AST de cães inoculados com placebo (grupo I) e com veneno de *Tityus serrulatus* (grupo II) em diferentes tempos

Tempo	LDH (U/l)		AST (U/l)	
	Grupo I	Grupo II	Grupo I	Grupo II
T zero	152,2 ± 133,4 <sup>Aa</sup>	60,7 ± 36,8 <sup>Aa</sup>	59,3 ± 17,8 <sup>Aa</sup>	35,5 ± 6,8 <sup>Bb</sup>
T1 – 2h	128,2 ± 101,7 <sup>Aa</sup>	90,5 ± 28,7 <sup>Aa</sup>	51,0 ± 11,4 <sup>Aa</sup>	57,0 ± 22,2 <sup>Aa</sup>
T2 – 6h	73,2 ± 40,3 <sup>Aa</sup>	75,8 ± 39,1 <sup>Aa</sup>	55,7 ± 12,9 <sup>Aa</sup>	61,8 ± 16,4 <sup>Aa</sup>
T3 – 12h	103,8 ± 60,6 <sup>Aa</sup>	105,0 ± 78,1 <sup>Aa</sup>	53,8 ± 17,6 <sup>Aa</sup>	46,7 ± 13,2 <sup>Ab</sup>
T4 – 24h	103,5 ± 119,9 <sup>Aa</sup>	106,5 ± 65,9 <sup>Aa</sup>	50,0 ± 8,1 <sup>Aa</sup>	35,5 ± 9,1 <sup>Bb</sup>
T5 – 48h	84,0 ± 49,7 <sup>Aa</sup>	64,2 ± 29,5 <sup>Aa</sup>	47,5 ± 9,8 <sup>Aa</sup>	32,2 ± 5,1 <sup>Bb</sup>
T6 – 72h	98,7 ± 63,6 <sup>Aa</sup>	90,8 ± 67,6 <sup>Aa</sup>	50,0 ± 9,8 <sup>Aa</sup>	36,0 ± 6,1 <sup>Ab</sup>

Médias seguidas das mesmas letras maiúsculas não diferem estatisticamente entre os grupos (linhas) e seguidas das mesmas letras minúsculas não diferem estatisticamente entre os tempos (colunas), submetidas à transformação logarítmica (LDH) e à análise de variância e ao teste Tukey, com P<0,05.

**Tabela 22** – Valores séricos de AST (U/l) de cães inoculados com veneno de *Tityus serrulatus* (grupo II) em diferentes tempos

	Cão 1	Cão 2	Cão 3	Cão 4	Cão 5	Cão 6
T zero	30	42	30	42	41	28
T1 – 2h	42	85	39	43	47	86
T2 – 6h	57	85	48	63	42	76
T3 – 12h	41	70	35	54	37	43
T4 – 24h	34	53	30	37	29	30
T5 – 48h	29	33	25	40	35	31
T6 – 72h	29	35	42	44	36	30

Os valores médios de CK (U/l) estão apresentados na Tabela 23. Não houve diferença estatística entre os grupos após a inoculação do placebo e do veneno. Quando se comparam os tempos, os menores valores foram observados após a inoculação do veneno. Todos os valores encontrados estão dentro da margem de referência para cães (20 – 473 U/l) (Kaneko et al., 1997).

Quando se observam as concentrações individuais de CK nos animais inoculados com veneno de *T. serrulatus*, destaca-se o cão 6, com maiores valores em T1 (370U/l) e T2 (312 U/l), porém, dentro da margem de referência citada. Esses resultados mostraram um aumento agudo de CK após o

envenenamento e um retorno ao valor inicial, 72h após.

A CK catalisa a fosforilação reversível de creatina em fosfocreatina, uma reserva de energia que participa da fosforilação de ADP em ATP, necessário para a contração muscular anaeróbia. As isoenzimas de CK são formadas por dois protômeros, M (músculo) ou B (cérebro). Assim, em humanos, a CK-BB está presente no cérebro, a CK-MM, nos músculos esquelético e cardíaco e a CK-MB principalmente no coração. Por sua presença no miócito e

atuando na contração muscular, a CK é a enzima mais sensível para indicar lesão muscular e tem meia vida curta, tal qual a AST. Apenas os grandes aumentos nos níveis de CK têm significância clínica, pois injeções intramusculares, ferimentos e decúbito prolongado tendem a causar pequenos aumentos dessa enzima (Cardinet, 1997; Kramer e Hoffmann, 1997; Thompson, 1997).

**Tabela 23** – Valores séricos médios de CK de cães inoculados com placebo (grupo I) e com veneno de *Tityus serrulatus* (grupo II) em diferentes tempos

Tempo	CK (U/l)	
	Grupo I	Grupo II
T zero	212,0 ± 94,6 <sup>Aa</sup>	79,2 ± 42,7 <sup>Ba</sup>
T1 – 2h	203,5 ± 117,4 <sup>Aab</sup>	139,5 ± 115,7 <sup>Aa</sup>
T2 – 6h	156,7 ± 100,6 <sup>Aab</sup>	130,0 ± 91,8 <sup>Aa</sup>
T3 – 12h	154,7 ± 54,1 <sup>Aab</sup>	140,3 ± 57,6 <sup>Aa</sup>
T4 – 24h	163,0 ± 113,0 <sup>Aab</sup>	151,2 ± 86,6 <sup>Aa</sup>
T5 – 48h	102,7 ± 62,0 <sup>Ab</sup>	87,3 ± 26,3 <sup>Aa</sup>
T6 – 72h	159,0 ± 128,1 <sup>Aab</sup>	103,2 ± 37,7 <sup>Aa</sup>

Médias seguidas das mesmas letras maiúsculas não diferem estatisticamente entre os grupos (linhas) e seguidas das mesmas letras minúsculas não diferem estatisticamente entre os tempos (colunas), submetidas à transformação logarítmica e à análise de variância e ao teste Tukey, com  $P < 0,05$ .

Não houve diferença estatística entre as medas de CK entre os grupos após a inoculação do placebo e do veneno. Quando se comparam os tempos, os menores valores foram observados após a inoculação do veneno. Todos os valores encontrados estão dentro da margem de referência para cães (20 – 473 U/l) (Kaneko et al., 1997).

Quando se observam as concentrações individuais de CK nos animais inoculados com veneno de *T. serrulatus*, destaca-se o cão 6, com maiores valores em T1 (370U/l) e T2 (312 U/l), porém, dentro da margem de referência citada. Esses resultados mostraram um aumento agudo de CK após o envenenamento e um retorno ao valor inicial, 72h após.

A CK catalisa a fosforilação reversível de creatina em fosfocreatina, uma reserva de energia que participa da fosforilação de ADP em ATP, necessário para a contração muscular anaeróbia. As isoenzimas de CK são formadas por dois protômeros, M (músculo) ou B (cérebro). Assim, em humanos, a CK-BB está presente no cérebro, a CK-MM, nos músculos esquelético e cardíaco e a CK-MB principalmente no coração. Por sua presença no miócito e atuando na contração muscular, a CK é a enzima mais sensível para indicar lesão muscular e tem meia vida curta, tal qual a AST. Apenas os grandes aumentos nos níveis de CK têm significância clínica, pois injeções intramusculares, ferimentos e

decúbito prolongado tendem a causar pequenos aumentos dessa enzima (Cardinet, 1997; Kramer e Hoffmann, 1997; Thompson, 1997).

A fração CK-MB têm sido utilizada na determinação de lesões cardíacas em humanos, causadas principalmente por infarto do miocárdio (Hetland e Dickstein, 1998; Ooi et al., 2000) e na SEE (Cupo e Hering, 2003; Cupo et al., 2003; Meki et al., 2003). Em mamíferos domésticos há discrepâncias na distribuição tissular das isoenzimas de CK, sendo que em cães, intestinos, baço e pulmões tem importância particular na concentração de CK-MB, pois nesses órgãos há alta atividade e quando associadas representam 85% da atividade total de CK-MB (Aktas et al., 1993, Cardinet et al., 1997). Por isso, a isoenzima CK-MB não é um indicador confiável de lesão cardíaca em cães, diferente do que ocorre com humanos (Wyatt et al., 1998). Neste trabalho, em virtude da discrepância entre os valores de CK-total e CK-MB dos cães obtidos no experimento-piloto, não foi possível considerar as concentrações da isoenzima cardíaca.

O teste imunocromatográfico (Figura 18) para a detecção de concentrações acima de 1ng/ml de troponina I cardíaca (cTnI) no soro foi negativo para todas as amostras dos grupos I e II.

O complexo troponina é formado por três subunidades: troponina C, que tem sítio de ligação para o cálcio; troponina T, que interage com filamentos de tropomiosina e a troponina I, componente inibidor. Essas proteínas participam da interação entre actina, miosina e tropomiosina para ocorrer o encurtamento de sarcômeros na fibra muscular, produzindo a contração (Cardinet, 1997). A troponina I é encontrada tanto no músculo cardíaco quanto no músculo esquelético, porém, em humanos, a proteína



**Figura 18** – Teste imunocromatográfico para a detecção de cTnI no soro do cão 6 em T zero e em T1. A faixa vermelho-violeta formada na parte “C” indica resultado negativo, ou seja, níveis de cTnI menores que 1ng/ml.

do músculo cardíaco é codificada por um gene específico, tendo uma seqüência típica de aminoácidos. Por isso, a quantificação ou a determinação de aumentos de cTnI no sangue, usando-se testes imunológicos que empreguem anticorpos reconhedores dos epitopos específicos dessa proteína é de altíssima utilidade no diagnóstico específico de lesões do miocárdio (Bodor et al., 1992; Cupo e Hering, 2002; Meki et al., 2003; Diniz et al., 2007). A maior vantagem disso é a habilidade em detectar lesões miocárdicas que são indetectáveis por métodos enzimáticos convencionais, com altas sensibilidade e especificidade, em pacientes com angina, miocardite, pericardite, em pós-operados, em doentes renais e em atletas. A associação com outros

exames, tais como dosagem de AST, LDH-1, CK-MB e mioglobina têm mostrado semelhança nos resultados, principalmente nos aumentos exagerados de cTnI, porém a concentração de cTnI é altamente correlacionável com a presença de alterações de eletro e ecocardiograma. Troponina I cardíaca é mais sensível que ecocardiografia transtorácica e pode detectar lesão miocárdica na ausência de alterações de eletrocardiograma (Cupo e Hering, 2002). Recentemente, a cTnI tem sido usada em cães no diagnóstico de traumas cardíacos com presença de taquicardia ventricular, doença da valva mitral, cardiomiopatia dilatada, efusão pericárdica e estenose aórtica subvalvular (Oyama e Sisson, 2004; Spratt et al., 2005; Burgener et al., 2006; Diniz et al., 2007).

No envenenamento escorpiônico humano tem sido relatado o uso de todas essas enzimas, isoenzimas e, mais recentemente, o uso da cTnI, devido a sua alta especificidade. Os resultados têm confirmado as lesões miocárdicas já citadas desde longa data na literatura científica nos casos clínicos graves. Os relatos indicam, nos casos moderados e graves, aumento de CK-MB e AST e os níveis de cTnI são muito elevados, podendo ser até 50 vezes maiores que o valor normal (Cupo et al., 1994, 2003; Bucarechi et al., 1995; Cupo e Hering, 2002). Em cães envenenados por *T. serrulatus*, Cordeiro et al. (2006) avaliaram apenas os níveis de CK-MB, encontrando aumento significativo 6h após a inoculação de veneno.

Os resultados deste trabalho não mostraram aumentos de marcadores de lesão muscular, e, o uso da troponina cardíaca, como marcador específico indica que não houve lesão miocárdica. A concentração normal de cTnI em cães varia em torno de 0,03 e 0,07ng/ml (Sleeper et al., 2001). Como o teste imunocromatográfico utilizado reage apenas na presença de concentrações acima de 1,0ng/ml, não se descarta a possibilidade

de ter havido lesões com a liberação de pequena quantidade de cTnI, sobretudo diante do fato de não ter havido mensuração de um outro marcador específico de lesão cardíaca com vistas à comparação com a troponina I. Porém, as doenças cardíacas diagnosticadas em cães com o uso deste marcador revelam aumentos muito maiores que esse limite, além de associações com outros exames (Oyama e Sisson, 2004; Spratt et al., 2005; Burgener et al., 2006; Diniz et al., 2007). A diferença estatística apresentada para a dosagem de CK não tem importância clínica, devido ao fato de os valores médios encontrados estarem dentro da faixa de normalidade para a espécie canina. O cão 6 pode ter sofrido discreta lesão muscular após o envenenamento, em decorrência dos aumentos apresentados em T1 e T2; como será visto a seguir, ele apresentou a maior concentração de cortisol do grupo II, entre T1 e T4, podendo este fato ter contribuído para um aumento do catabolismo protéico.

Os valores de LDH, devido a sua menor especificidade, apresentaram-se mais irregulares e também não esclarecem lesões. Os aumentos de AST apresentados, inclusive com significância estatística, ocorreram nos mesmos tempos dos maiores valores médios de ALT, coincidindo, também, os cães que apresentaram os maiores valores (cães 2 e 6), revelando que os aumentos de AST, foram causados por lesão hepática, uma vez que essa enzima tem também é encontrada nos hepatócitos.

A miocardite, no envenenamento escorpiônico pode ser multifatorial, sendo as causas mais prováveis, o efeito cardiotóxico de catecolaminas, por causar hipóxia, devido à vasoconstrição e à intensificação do consumo de oxigênio; o acúmulo de ácido láctico; a “Síndrome de Déficit de Energia; o efeito direto do veneno, cujo mecanismo ainda não foi totalmente elucidado e o efeito de citocinas, recentemente identificadas em quadros de envenenamento escorpiônico



(Raab, 1960; Murthy e Hase, 1994; Ismail, 1995; Sofer et al., 1996; Meki e Eldean, 1998; Magalhães et al., 1999; Teixeira Júnior et al., 2001; Meki et al., 2003). Os resultados deste trabalho mostram que os cães não desenvolveram nenhum desses mecanismos após a inoculação de veneno de *T. serrulatus*. Os outros resultados laboratoriais e sintomas já apresentados indicam que não houve distúrbios ácido-básicos que condissessem com quadros de hipóxia e acidose metabólica, enquanto distúrbios metabólicos, foram caracterizados apenas por hiperglicemia transitória.

A dosagem de amilase nos cães dos grupos I e II está apresentada na Tabela 24. Não houve diferença estatística entre os grupos ( $P < 0,05$ ), nem entre os tempos no grupo I, mas foi identificada, no grupo II, diferença entre T4 e T6. A discreta variação aconteceu dentro da margem de referência para a espécie canina (300 – 2000U/l) (Jain, 1993).

Amilase é uma metaloenzima, produzida pelo pâncreas exócrino e outros tecidos,

exceto as glândulas salivares, nos cães, cuja função é catalisar a hidrólise de amido e glicogênio para formar maltose e glicose. É uma enzima altamente dependente de cálcio e que apresenta meia-vida muito alta, razão pela qual a margem de referência para suas concentrações plasmáticas é muito ampla. Sua secreção geralmente é aumentada na inflamação do pâncreas, que pode ser causada por fatores mecânicos, como obstrução de canalículos, doenças infecciosas, isquemia, deficiências nutricionais, intoxicação pelo zinco e na hipercalcemia (Brobst, 1997; Kramer e Hoffmann, 1997). Uma vez que a amilase pode ser produzida por outros tecidos, a informação de sua concentração sem a dosagem de lipase pancreática não tem valor diagnóstico definitivo para a pancreatite. A atividade de amilase pode ainda ser relacionada à função renal, uma vez que hiperamilasemia pode ser um indicativo de insuficiência renal aguda, de pancreatite, ou de ambos.

**Tabela 24** - Valores séricos médios de amilase pancreática de cães inoculados com placebo (grupo I) e com veneno de *Tityus serrulatus* (grupo II) em diferentes tempos

Tempo	Amilase (U/l)	
	Grupo I	Grupo II
T zero	776,5 ± 48,6 <sup>Aa</sup>	894,8 ± 188,1 <sup>Aab</sup>
T1 – 2h	763,2 ± 76,7 <sup>Aa</sup>	899,0 ± 152,1 <sup>Aab</sup>
T2 – 6h	816,2 ± 65,1 <sup>Aa</sup>	891,8 ± 172,8 <sup>Aab</sup>
T3 – 12h	800,7 ± 116,1 <sup>Aa</sup>	793,0 ± 206,8 <sup>Aab</sup>
T4 – 24h	848,2 ± 164,6 <sup>Aa</sup>	700,7 ± 155,5 <sup>Ab</sup>
T5 – 48h	829,2 ± 116,1 <sup>Aa</sup>	782,3 ± 216,7 <sup>Aab</sup>
T6 – 72h	866,7 ± 161,3 <sup>Aa</sup>	910,3 ± 290,4 <sup>Aa</sup>

Médias seguidas das mesmas letras maiúsculas não diferem estatisticamente entre os grupos (linhas) e seguidas das mesmas letras minúsculas não diferem estatisticamente entre os tempos (colunas), submetidas à análise de variância e ao teste Tukey, com  $P < 0,05$

Na SEE a ocorrência de pancreatite é relatada sem, contudo, ser elucidado o seu mecanismo. Há indícios de ação direta das neurotoxinas sobre as células pancreáticas, da mesma forma que atuam sobre os

neurônios, mas suspeita-se também do efeito neurogênico causado pela hiperestimulação colinérgica do sistema parassimpático (Sankaran et al., 1983; Possani et al., 1992; Bucarechi et al., 1995; Fletcher et al., 1996;

Cupo et al., 2003; Melo et al., 2004b). Fukuhara et al. (2003, 2004) relacionaram níveis de cininas (bradicinina e calicreína), a produção de citocinas, tais como IL-1, IL-6 e TNF- $\alpha$  e a estimulação hepática de proteínas de fase aguda, como conseqüências do envenenamento escorpiônico em paciente humanos. Está é uma informação relevante, pois, o fluxo sanguíneo pancreático pode ser diminuído por histamina, prostaglandinas, fator ativador plaquetário, radicais livres e cininas, e a isquemia é uma das causas de pancreatite (Brobst, 1997).

Nos cães deste experimento, a regularidade das concentrações de amilase indicam que não houve estímulo pancreático para o aumento de sua secreção exócrina. O estímulo parassimpático, que parece ter influenciado no aumento de secreção gástrica e, por conseguinte, levando a vômitos nos cães 2 e 6, não causou o mesmo efeito sobre as células acinares do pâncreas. Da mesma forma, apesar da alta dose de veneno, as neurotoxinas parecem não ter desempenhado a função secretagoga sobre células pancreáticas identificada por Fletcher et al. (1996), uma vez que este estímulo foi verificado apenas *in vitro*. As concentrações de amilase indicam também a integridade da função renal, pois, por ser uma enzima de meia-vida longa, diminuições na sua filtração glomerular, mesmo que fosse apenas nas primeiras horas após o envenenamento, causariam aumentos nos níveis de amilase que seriam percebidos nos exames posteriores. Por fim, apesar de já ter sido considerado neste trabalho a participação de citocinas, cininas e proteínas de fase aguda após a inoculação de veneno de *T. serrulatus* nos cães, esses mediadores parecem não ter exercido influência sobre o pâncreas desses animais.

Os valores médios de glicose plasmática dos cães do grupos I e II (controle e envenenado respectivamente) estão representados na Tabela 25 e as concentrações individuais dos

cães do grupo II, na Tabela 26. Não foi encontrada diferença estatística ( $P>0,05$ ) entre grupos e tempos. Porém, os resultados individuais mostram que apenas o cão 6 apresentou hiperglicemia acentuada, em T1 (292mg/dl), enquanto os cães 1 e 2 apresentaram discretos aumentos em T1 e T2, e o cão 5, apenas em T2. O cão 6 foi o único que apresentou glicosúria 8h após o envenenamento, conforme relatado anteriormente.

**Tabela 25** – Valores plasmáticos médios de glicose de cães inoculados com placebo (grupo I) e com veneno de *Tityus serrulatus* (grupo II) em diferentes tempos

Tempo	Glicose (mg/dl)	
	Grupo I	Grupo II
T zero	87,0 $\pm$ 8,7	83,6 $\pm$ 11,7
T1 – 2h	85,8 $\pm$ 5,8	130,8 $\pm$ 81,1
T2 – 6h	81,1 $\pm$ 15,9	116,1 $\pm$ 28,8
T3 – 12h	80,5 $\pm$ 12,3	81,6 $\pm$ 7,0
T4 – 24h	84,8 $\pm$ 10,2	78,6 $\pm$ 9,2
T5 – 48h	85,1 $\pm$ 11,2	83,5 $\pm$ 9,6
T6 – 72h	82,0 $\pm$ 6,8	85,0 $\pm$ 11,2

Não houve diferença estatisticamente significativa entre os tempos e os grupos submetidos à análise estatística não-paramétrica (Friedman e Mann-Whitney) ( $P>0,05$ ).

As concentrações médias de cortisol dos dois grupos estão representadas na Tabela 27. No grupo II, o maior valor médio apresentado foi em T1, diferente estatisticamente ( $P<0,05$ ) do valor médio em T5, 48h após o envenenamento, e em T1 do grupo I. A concentração média de cortisol observada em T1 (9,08) ultrapassou a margem de referência para cães (0,96 – 6,81 $\mu$ g/dl), segundo Kaneko et al. (1997). Quando se observam as concentrações individuais dos cães do grupo II (Tabela 28), pode-se notar que o cão 6 apresentou os maiores valores de cortisol, em T1 e T2, permanecendo com discretos aumentos, ainda, em T3 e T4. Os cães 1, 2 e 3 também apresentaram discretos aumentos em T1.

Não houve diferença estatística ( $P>0,05$ ) entre tempos e grupos. A maioria dos valores individuais ficou abaixo da margem de referência para a espécie canina ( $5 - 20\mu\text{U/ml}$ ) (Kaneko et al., 1997), inclusive no grupo controle e nota-se aumentos nos mesmos tempos em que houve elevação da

concentração de glicose (T1 e T2, exceto cão 2, que não apresentou aumento e cão 3, que apresentou aumento em T3). O cão 6 apresentou elevações de insulina, em T4 e T5, nos dois dias seguintes ao envenenamento.

**Tabela 26** – Valores plasmáticos de glicose (mg/dl) de cães inoculados com veneno de *Tityus serrulatus* (grupo II) em diferentes tempos

	Cão 1	Cão 2	Cão 3	Cão 4	Cão 5	Cão 6
T zero	94	88	81	63	81	95
T1 – 2h	129	111	88	78	87	292
T2 – 6h	125	162	91	109	128	82
T3 – 12h	71	82	93	80	82	82
T4 – 24h	86	68	87	82	83	66
T5 – 48h	85	83	72	76	100	85
T6 – 72h	98	95	75	72	92	78

**Tabela 27** – Valores séricos médios de cortisol e de insulina de cães inoculados com placebo (grupo I) e com veneno de *Tityus serrulatus* (grupo II) em diferentes tempos

Tempo	Cortisol (ng/dl)		Insulina ( $\mu\text{U/ml}$ )	
	Grupo I	Grupo II	Grupo I	Grupo II
T zero	$3,45 \pm 1,45$ Aa	$3,03 \pm 1,32$ Aab	$5,57 \pm 5,83$ Aa	$3,55 \pm 1,69$ Aa
T1 – 2h	$2,35 \pm 0,85$ Ba	$9,08 \pm 9,78$ Aa	$6,00 \pm 4,21$ Aa	$6,65 \pm 4,11$ Aa
T2 – 6h	$2,67 \pm 1,08$ Aa	$5,87 \pm 6,61$ Aab	$4,30 \pm 1,77$ Aa	$7,72 \pm 5,12$ Aa
T3 – 12h	$3,03 \pm 1,42$ Aa	$3,57 \pm 2,03$ Aab	$7,90 \pm 10,38$ Aa	$5,12 \pm 2,73$ Aa
T4 – 24h	$2,32 \pm 1,40$ Aa	$3,85 \pm 2,30$ Aab	$2,23 \pm 1,40$ Aa	$3,95 \pm 2,78$ Aa
T5 – 48h	$3,08 \pm 0,77$ Aa	$2,38 \pm 0,57$ Ab	$3,57 \pm 2,28$ Aa	$4,53 \pm 4,85$ Aa
T6 – 72h	$2,75 \pm 1,48$ Aa	$2,58 \pm 0,49$ Aab	$3,22 \pm 0,86$ Aa	$4,45 \pm 1,71$ Aa

Médias seguidas das mesmas letras maiúsculas não diferem estatisticamente entre os grupos (linhas) e seguidas das mesmas letras minúsculas não diferem estatisticamente entre os tempos (colunas), submetidas à análise de variância e ao teste Tukey, com  $P<0,05$

O metabolismo da glicose no organismo é influenciado pelo controle hormonal do cortisol, da insulina e do glucagon. O cortisol é um glicocorticóide, hormônio esteróide secretado pelas células das camadas fasciculada e reticular do córtex da glândula adrenal. O controle de sua secreção é feito por corticotrofina, um hormônio trófico produzido pela hipófise anterior, por meio de sistema de retroalimentação negativa em que altos níveis de glicocorticóides inibem a secreção

do hormônio hipotalâmico liberador da corticotrofina. Esse controle não mantém constantes os níveis de glicocorticóides, pois os padrões de sono e atividade sobrepõem-se ao sistema de retroalimentação negativa para que ocorra o ciclo circadiano nos quais as concentrações de glicocorticóides sejam diminuídas à noite e aumentem nas primeiras horas da manhã. Outro fator, controlado pelo SNC, assim como o ciclo circadiano, e que eleva os níveis de glicocorticóides é o estresse

(Cunningham, 2004). O cortisol é o mais potente dos glicocorticóides produzidos naturalmente. Sua principal ação é aumentar a glicemia por meio da indução de gliconeogênese. Sua ação sobre o fígado induz a produção do glicogênio hepático e aumento de glicemia e a produção de enzimas que catalisam a conversão de aminoácidos em carboidratos. Nos

músculos, inibe a síntese protéica e aumenta o catabolismo de proteínas para a liberação de aminoácidos, e também inibe a captação de glicose pelos tecidos muscular e adiposo. Tecido muscular e cérebro não sofrem os efeitos catabólicos dos glicocorticóides. (Rijnberk e Mol, 1997; Kaneko, 1997a; Cunningham, 2004).

**Tabela 28** – Valores séricos de cortisol (ng/dl) e de insulina ( $\mu$ U/ml) de cães inoculados com veneno de *Tityus serrulatus* (grupo II) em diferentes tempos

	Cão 1		Cão 2		Cão 3		Cão 4		Cão 5		Cão 6	
	C	I	C	I	C	I	C	I	C	I	C	I
Tzero	1,8	2,2	1,3	3,0	4,4	2,9	2,6	4,4	3,8	2,2	4,3	6,6
T1 – 2h	6,0	5,2	7,3	3,0	7,4	3,3	1,4	11,0	3,9	4,8	28,5	12,7
T2 – 6h	4,3	4,2	3,6	2,9	2,4	3,7	3,0	15,0	2,6	14,0	19,3	7,5
T3 – 12h	4,1	1,8	2,5	3,4	2,4	9,2	2,5	7,5	2,4	4,5	7,5	4,3
T4 – 24h	3,0	1,0	4,6	4,0	2,4	3,7	2,1	2,5	2,8	3,3	8,2	9,2
T5 – 48h	2,5	1,3	2,4	2,3	1,7	2,5	2,1	3,2	2,2	3,6	3,4	14,3
T6 – 72h	2,5	2,6	2,1	5,5	2,2	2,9	2,3	3,7	3,2	4,9	3,2	7,1

C – Cortisol; I – Insulina

A insulina é um hormônio protéico produzido pelas células  $\beta$  das ilhotas pancreáticas. Hiperglicemia é um estímulo para o aumento de sua secreção e produção, além de aumentos de aminoácidos, glucagon, gastrina e secretina; contrariamente, hipoglicemia é fator inibitório. A insulina se liga a receptores de membrana nas células aumentando a entrada de glicose, sobretudo nos tecidos de maior demanda energética, como nervoso e muscular. Da mesma forma que o cortisol, aumenta a síntese de glicogênio, porém diminui a glicogenólise e a gliconeogênese, sendo esse efeito responsável pela diminuição da glicemia. No metabolismo protéico, aumenta a captação de aminoácidos e a síntese de proteínas, além de inibir as enzimas hepáticas que convertem aminoácidos em carboidratos, enquanto no metabolismo de lipídeos, aumenta a lipogênese e diminui a lipólise. (Kaneko, 1997a; Rijnberk e Mol, 1997; Cunningham, 2004; Rang, 2004).

A adrenalina também aumenta a glicemia ao inibir a liberação de insulina por estimulação de receptores  $\alpha$ -2 do pâncreas e ao promover a glicogenólise, ativando receptores  $\beta$ -2 no músculo estriado e no fígado (Rang et al., 2004). Glucagon, que tem função oposta à insulina, estimula glicogenólise apenas no fígado, e inibe a gliconeogênese hepática (Kaneko, 1997a; Rijnberk e Mol, 1997; Rang et al., 2004).

A participação de cortisol e insulina na SEE está muito relacionada à liberação de catecolaminas e ao estresse provocado pela dor. Ismail e Abd-Elsalam (1988) afirmaram que a pancreatite observada no envenenamento, seria a responsável pela hiperglicemia, sugerindo-se diminuição da secreção e produção de insulina em função de lesão no pâncreas. Inibição da liberação de insulina e estímulo direto da secreção de glucagon, ou mesmo indireto frente à elevação de insulina são efeitos farmacológicos muito observados, sendo,

juntamente com a vasoconstrição, com a hipóxia e com o aumento de consumo energético, os motivos da chamada “Síndrome de déficit de energia”, uma das consequências mais graves de envenenamento escorpiônico (El-Asmar, 1983; Ismail e Abd-Elsalam, 1988; Murthy e Hase, 1994; Murthy e Hagnazari, 1999; Yugandar et al., 1999). As concentrações de cortisol de cães envenenados por *Mesobuthus tamulus cancanesis* apresentaram grande elevação após a inoculação do veneno, sendo uma das causas da hiperglicemia também relatada (Murthy e Hagnazari, 1999).

Os resultados deste trabalho mostraram que houve grande variabilidade na glicemia dos cães após a inoculação de veneno de *T. serrulatus*. Pode-se observar que os cães que manifestaram dor menos intensa (4 e 5) não mostraram variações notáveis na concentração de cortisol, que foi também causa da pouca variação na concentração de glicose. Os cães 1, 2 e 3 apresentaram a maior concentração de cortisol em T1, condizente com o momento de maior manifestação de dor, e aumentos na glicemia superiores ao limite de glicemia da espécie canina (60 – 110mg/dl) (Jain, 1993). O cão 6, que apresentou a manifestação de dor mais intensa e duradoura, além de dor abdominal, teve as maiores concentrações de cortisol do experimento. A resposta dos glicocorticóides é proporcional à gravidade do estresse, ou seja, menores níveis de estresse resultam em menor produção de cortisol quando comparados a níveis elevados de estresse (Cunningham, 2004).

Por outro lado, a variação na concentração de insulina não ultrapassou os limites da margem de referência, mas apresentou aumentos coincidentes com as elevações de glicose nos cães 1, 4, 5 e 6, sugerindo que não houve inibição da insulina após o envenenamento, e sua secreção foi estimulada pela hiperglicemia. A meia-vida da insulina é de 5 a 10 minutos, enquanto a

do cortisol é de cerca de 60 min (Kaneko, 1997a; Cunningham, 2004). As respostas ao estresse e à hiperglicemia são muito rápidas (Cunningham, 2004), provocando a secreção desses dois hormônios, porém, como a eliminação também é rápida, a atividade exata de insulina e cortisol ficam incertas no intervalo de 2h entre T zero e T1 e de 4h entre T1 e T2, os momentos de maior manifestação dolorosa do experimento e de aumentos na glicemia. A ausência de desequilíbrio ácido-básico, miocardite e de alterações cardíacas no eletrocardiograma, no entanto, sugerem que o metabolismo energético dos cães não foi afetado, pois aqueles sinais são consequências da Síndrome Déficit de Energia. A atuação das catecolaminas, apesar de não alterarem a secreção de insulina, pode ter desempenhado papel importante na hiperglicemia, aumentando a mobilização hepática de glicogênio e o catabolismo protéico muscular.

### 5.2.5– Avaliação cardiovascular

Os valores médios de pressão arterial sistólica dos cães dos grupos I e II estão na Tabela 29. Houve variação muito estreita entre as médias dentro do grupo I (122,0mmHg a 127,5mmHg), enquanto no grupo II houve aumento já em T1. O maior valor foi encontrado em T2 (1h) e a partir de T4 (4h) houve decréscimo gradativo até o retorno ao valor inicial em T7 (24h). Não foi constatada diferença estatística ( $P>0,05$ ) dentro do grupo II, apesar dos aumentos expressivos de T1 a T3. Porém, em T1 e T2 houve diferença significativa entre o grupo I e o grupo II.

Todos os cães do grupo envenenado sofreram aumento médio de pressão arterial sistólica, entre T1 e T4 conforme mostrados na Tabela 30 os valores individuais dos cães do grupo II. O padrão de variação foi diferente entre os cães, sendo que os cães 1 e

5 apresentaram pequenas oscilações durante o aumento da pressão, com diminuição a partir de T5; o cão 6 manteve a pressão arterial estável de T1 a T3, declinando a partir de T4; o cão 3 apresentou aumento gradativo até T3 e a partir de T5 começou a

diminuir; o cão 4 teve a pressão mais elevada em T2, com a diminuição a partir de T5; o cão 2 teve o declínio na pressão mais tardio, em T6, depois de atingir o valor máximo em T2.

**Tabela 29**– Valores médios de pressão arterial sistólica de cães inoculados com placebo (grupo I) e com veneno de *Tityus serrulatus* (grupo II) em diferentes tempos

Tempo	Pressão arterial sistólica (mmHg)	
	Grupo I	Grupo II
T zero	124,0 ± 10,4 Aa	129,7 ± 7,9 Aa
T1 – 0,5h	122,2 ± 7,5 Ba	171,8 ± 8,9 Aa
T2 – 1h	123,5 ± 10,4 Ba	174,2 ± 20,4 Aa
T3 – 2h	127,5 ± 11,7 Aa	171,5 ± 12,6 Aa
T4 – 4h	121,5 ± 10,1 Aa	163,5 ± 14,2 Aa
T5 – 8h	123,8 ± 11,4 Aa	140,2 ± 17,7 Aa
T6 – 12h	126,5 ± 11,4 Aa	135,0 ± 10,6 Aa
T7 – 24h	122,0 ± 8,4 Aa	129,7 ± 8,2 Aa
T8 – 48h	123,8 ± 13,6 Aa	122,7 ± 7,5 Aa

Médias seguidas das mesmas letras maiúsculas não diferem estatisticamente entre os grupos (linhas) e seguidas das mesmas letras minúsculas não diferem estatisticamente entre os tempos (colunas), submetidas à análise estatística não-paramétrica (Kruskall-Wallis) com  $P < 0,05$

**Tabela 30** – Valores médios de pressão arterial sistólica (mmHg) de cães inoculados com veneno de *Tityus serrulatus* (grupo II) em diferentes tempos

Tempos	Cão 1	Cão 2	Cão 3	Cão 4	Cão 5	Cão 6
T zero	123	136	120	133	140	126
T1 – 0,5h	163	180	178	170	180	160
T2 – 1h	153	190	180	180	182	160
T3 – 2h	156	180	190	173	170	160
T4 – 4h	160	176	150	170	180	145
T5 – 8h	133	173	135	140	140	120
T6 – 12h	130	146	130	136	148	120
T7 – 24h	130	140	120	133	135	120
T8 – 48h	120	130	125	130	121	110

A pressão arterial é um parâmetro correlacionado com o débito cardíaco, com a resistência vascular e com a volemia. Conceitualmente, a pressão sanguínea é a força lateral, por unidade de área, exercida sobre a parede vascular e criada quando o sangue é ejetado pelo ventrículo esquerdo na artéria aorta. A pressão gerada é pulsátil (dependente da frequência cardíaca gerando

uma onda vascular de distensão) e tem um valor máximo – a pressão arterial sistólica, 110 a 160mmHg em cães, e um mínimo – a pressão arterial diastólica, entre 70 e 90mmHg. A pressão sistólica é modulada pelas dimensões dos vasos e pela sua elasticidade, sendo útil na estimativa da perfusão sanguínea e do consumo de oxigênio pelo miocárdio. A pressão

diastólica é regulada primariamente pela resistência vascular sistêmica e pela volemia, relacionando-se, basicamente, com a oferta de volume disponível na circulação (Jones, 1996; Grosenbaugh e Muir, 1998).

A resistência dos vasos sanguíneos é influenciada enormemente por vários hormônios e neurotransmissores. As catecolaminas (adrenalina e noradrenalina) são potentes vasoconstritores, que atuam sobre receptores adrenérgicos presentes em células endoteliais ou no músculo liso dos vasos. Receptores  $\alpha_1$  e  $\alpha_2$  em todos os órgãos são estimulados por noradrenalina de neurônios do sistema autônomo simpático e pela adrenalina circulante causando vasoconstrição, enquanto receptores  $\beta_2$  presentes na circulação coronariana e do músculo esquelético induzem vasodilatação quando estimulados por catecolaminas circulantes. Em todas as células musculares cardíacas há receptores  $\beta_1$ , cuja ativação causa aumento da frequência do marcapasso, aumenta a velocidade condução do impulso, diminui o período refratário e provê contrações mais rápidas, fortes e curtas. Receptores muscarínicos do tipo  $M_2$ , presentes no coração respondem à acetilcolina proveniente de nervos do sistema nervoso parassimpático causando efeitos opostos aos dos receptores  $\beta_1$ . Em arteríolas há receptores do tipo  $M_3$ , que causam vasodilatação. A angiotensina é outra potente substância vasoconstritora que tem por função mais importante atuar simultaneamente sobre todas as arteríolas do organismo para aumentar a resistência periférica total, aumentando assim a pressão arterial. Endotelina, outra proteína vasoconstritora, está presente nas células endoteliais de quase todos os vasos e o estímulo para a sua liberação é a lesão vascular, de modo que, em lesões graves, o seu efeito vasoconstritor impede o sangramento profuso de uma artéria de até 5mm de diâmetro. Alguns autacóides são vasodilatadores e estão muito relacionados a reações inflamatórias. Bradicininina e

histamina causam vasodilatações arteriulares muito potentes, além de aumentar a permeabilidade e o extravasamento de líquido e proteínas plasmáticas para dentro dos tecidos (Guyton, 1996; Cunningham, 2004).

A alteração de pressão arterial no envenenamento escorpônico está muito relacionada à atuação de neurotransmissores liberados pelo efeito das toxinas. Em ratos, Santana et al. (1996) também observaram aumento de pressão arterial com a aplicação subcutânea de 200 $\mu$ g de veneno de *T. serrulatus*, além de, edema pulmonar uni e bilateral. O principal efeito é a hipertensão, principalmente em crianças, por vezes associada ao edema pulmonar (Campos et al., 1979; Abroug et al., 1991; Rezende et al., 1998; Cupo e Hering, 2002; Cupo et al., 2007). A liberação de catecolaminas é muito relacionada à hipertensão em diversos trabalhos (Gueron e Yaron, 1970; Dávila et al., 2002; Abroug et al., 2003; Noura et al., 2005; Ouanes-Besbes et al., 2005) bem como a estimulação do sistema renina-angiotensina (Gueron et al., 1992a). Endotelinas foram também, recentemente, relacionadas à hipertensão em cães após envenenamento por *Androctonus australis hector* (Noura et al., 2005). A aplicação de veneno de *T. serrulatus* em cães por Cordeiro et al. (2006), no entanto, não causou variações significativas nas pressões arteriais sistólica e diastólica.

Neste trabalho, todos os cães apresentaram aumentos de pressão arterial sistólica após a inoculação de veneno de *T. serrulatus*. Além do efeito neurotóxico do veneno, há que se destacar os efeitos da dor sobre a liberação de catecolaminas. É notável que os tempos em que os cães apresentaram aumentos na pressão coincidem com o período de maior manifestação dolorosa. A presença de mediadores inflamatórios já citados, sobretudo nos mecanismos da dor, como bradicininina e histamina, não antagonizaram os estímulos vasoconstritores.

A vasoconstrição que pode ter causado a hipertensão nos cães atuou também sobre o baço, uma vez que a dor abdominal e aumentos de volume globular, sem a ocorrência de desidratação, foram creditados à contração esplênica, e também relatados por Tarasiuk e Sofer (1999); Andrade et al. (2004) e Melo et al. (2004b). A vasoconstrição, porém, não causou isquemia nem hipóxia, uma vez que não houve sinais de desequilíbrio ácido-básico e hidroeletrólítico, e lesões miocárdicas, conseqüências da Síndrome de Déficit de Energia citadas por Murthy e Hase, (1994) e Murthy e Hagnazari, (1999).

A avaliação eletrocardiográfica não acusou alterações em nenhuma das derivações realizadas (I, II, III, aVR, aVL e aVF). As frequências cardíacas e as durações dos complexos QRS e dos intervalos PR e QT estão representados na Tabela 31. Não houve alterações significativas ( $P < 0,05$ ) em nenhum desses parâmetros, tendo havido variações muito estreitas. A frequência cardíaca, a exemplo da avaliação feita à auscultação não sofreu alterações significativas.

Nos traçados eletrocardiográficos não foram detectadas alterações nas amplitudes das ondas e o segmento ST não apresentou supra ou infradesníveis (Figura 19). Não foram identificadas arritmias importantes, apenas a arritmia sinusal, identificada também no experimento-piloto. No experimento principal a arritmia sinusal ocorreu em 81 dos 108 ECG realizados. Como já discutido no experimento-piloto, anteriormente, a arritmia sinusal é de ocorrência freqüente em cães saudáveis, sendo caracterizada por alternância de períodos de frequência cardíaca mais rápidos e mais lentos, evidenciados pelos intervalos RR e relacionada a interferências dos movimentos respiratórios sobre o nervo vago fazendo a frequência cardíaca aumentar durante inspiração e diminuir na expiração (Tilley, 1992).

Os parâmetros ecocardiográficos também não revelaram alterações entre os grupos I e II. Basicamente, foram feitas as avaliações do diâmetro do átrio esquerdo e da aorta, da função ventricular esquerda (Figura 20) e dos fluxos mitral, aórtico, tricúspide e pulmonar, conforme apresentado nas Tabelas 32, 33, 34 e 35.

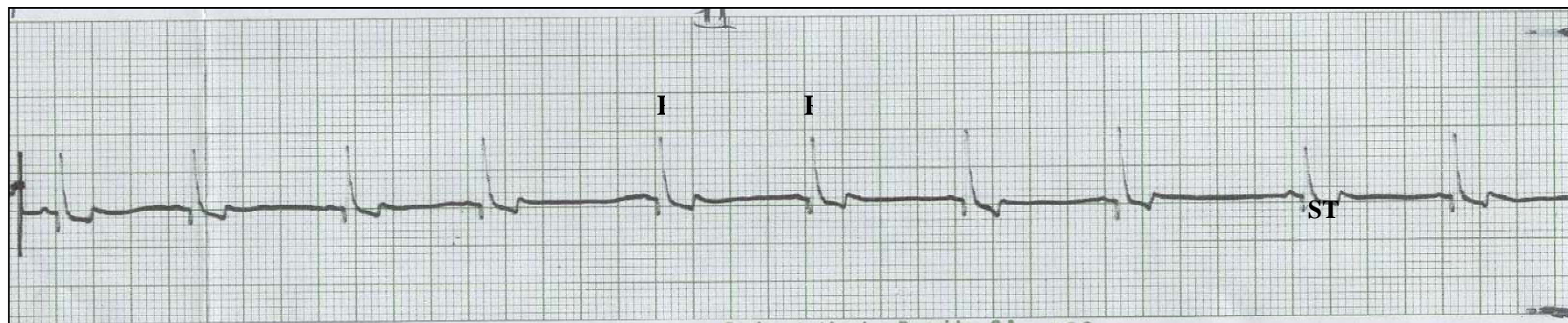
As alterações de ECG mais citadas em decorrência do envenenamento escorpiônico apontam para três causas principais: desequilíbrio hidroeletrólítico, estímulo do sistema nervoso autônomo e miocardite (Ismail, 1995). Certas alterações são caracterizadas como que dentro de um padrão “tipo infarto de miocárdio precoce” (Gueron et al., 1992b; Ismail, 1995). As conseqüências de lesões no miocárdio sobre a geração e a condução do impulso cardíaco são: a geração de focos ectópicos no átrio e no ventrículo, dando origens a impulsos diferentes e a contrações ventriculares prematuras; os bloqueios de ramos de feixes nervosos em áreas lesadas ou isquêmicas e até mesmo a fibrilação ventricular, em quadros de anóxia, com despolarização e contrações desordenadas dos ventrículos, deprimindo consideravelmente a função cardíaca. Diminuições de condução de impulso pelo nodo átrio-ventricular levam a aumentos de intervalo PR. Alterações hemodinâmicas que levam ao aumento do átrio esquerdo, como a insuficiência cardíaca congestiva e edema pulmonar, causam contrações atriais prematuras ou extra-sístole atrial e fibrilações atriais. O estímulo do sistema nervoso autônomo pode causar arritmias supraventriculares (taquicardia ou bradicardia sinusais, com variações na quantidade de impulsos gerados). Bloqueios podem ser causados também pelos desequilíbrios hidroeletrólíticos, por alterações nos potenciais de membrana.



**Tabela 31** – Frequência cardíaca (FC), complexos QRS e intervalos QT e PR de eletrocardiogramas de cães inoculados com placebo (grupo I) e com veneno de *Tityus serrulatus* (grupo II) em diferentes tempos.

Tempo	FC (bat/min)		QRS (seg)		QT (seg)		PR (seg)	
	Grupo I	Grupo II	Grupo I	Grupo II	Grupo I	Grupo II	Grupo I	Grupo II
T zero	90,0 ± 16,7	108,3 ± 18,3	0,045 ± 0,005	0,053 ± 0,005	0,203 ± 0,023	0,192 ± 0,019	0,093 ± 0,014	0,090 ± 0,018
T1 – 0,5h	91,7 ± 16,0	106,0 ± 8,9	0,048 ± 0,010	0,054 ± 0,005	0,208 ± 0,016	0,202 ± 0,016	0,098 ± 0,008	0,092 ± 0,011
T2 – 1h	95,8 ± 20,6	110,0 ± 12,6	0,047 ± 0,008	0,057 ± 0,005	0,202 ± 0,015	0,195 ± 0,012	0,093 ± 0,012	0,090 ± 0,018
T3 – 2h	91,7 ± 13,3	106,7 ± 23,4	0,047 ± 0,008	0,057 ± 0,005	0,210 ± 0,011	0,205 ± 0,020	0,093 ± 0,012	0,092 ± 0,013
T4 – 4h	85,0 ± 12,2	110,0 ± 14,1	0,043 ± 0,005	0,057 ± 0,005	0,208 ± 0,017	0,195 ± 0,034	0,097 ± 0,010	0,097 ± 0,015
T5 – 8h	95,0 ± 23,5	83,3 ± 10,3	0,045 ± 0,005	0,057 ± 0,005	0,203 ± 0,024	0,212 ± 0,013	0,095 ± 0,014	0,100 ± 0,015
T6 – 12h	93,3 ± 19,7	79,2 ± 11,1	0,047 ± 0,008	0,058 ± 0,004	0,213 ± 0,016	0,208 ± 0,022	0,095 ± 0,012	0,092 ± 0,016
T7 – 24h	100,8 ± 23,8	82,5 ± 9,9	0,050 ± 0,011	0,057 ± 0,005	0,212 ± 0,026	0,208 ± 0,029	0,097 ± 0,015	0,090 ± 0,013
T8 – 48h	105,0 ± 29,5	95,0 ± 28,8	0,047 ± 0,008	0,058 ± 0,004	0,203 ± 0,027	0,205 ± 0,014	0,092 ± 0,015	0,090 ± 0,009

Não houve diferença estatisticamente significativa entre os tempos e os grupos, submetidos à estatística não-paramétrica (Friedman e Mann-Whitney) ( $P > 0,05$ ).



**Figura 19** – Eletrocardiograma do cão 1, derivação II, mostrando arritmia sinusal, representada por diferentes intervalos RR e segmento ST retilíneo.

**Tabela 32** – Comprimento do átrio esquerdo e da raiz da aorta e relação átrio esquerdo/aorta (AE/Ao) dos cães inoculados com placebo (grupo I) e com veneno de *Tityus serrulatus* (grupo II) antes e após 10h.

Tempo	AE (cm)		Ao (cm)		Relação AE/Ao	
	Grupo I	Grupo II	Grupo I	Grupo II	Grupo I	Grupo II
T zero	2,649 ± 0,237	2,835 ± 0,529	1,648 ± 0,160	1,911 ± 0,313	1,61 ± 0,17	1,48 ± 0,13
T1 – 10h	2,607 ± 0,171	2,803 ± 0,376	1,808 ± 0,219	1,912 ± 0,336	1,45 ± 0,10	1,47 ± 0,09

AE – Diâmetro do átrio esquerdo; Ao – Diâmetro da aorta

Não houve diferença estatisticamente significativa entre os tempos e os grupos, submetidos à transformação logarítmica e à análise de variância e ao teste Tukey (P>0,05).

**Tabela 33** – Velocidade máxima do fluxo mitral, velocidade das ondas E e A e relação onda E/onda A (E/A) dos cães inoculados com placebo (grupo I) e com veneno de *Tityus serrulatus* (grupo II) antes e após 10h.

Tempo	Vel. Max. Fluxo mitral (cm/s)		Onda E (cm/s)		Onda A (cm/s)		Relação E/A	
	Grupo I	Grupo II	Grupo I	Grupo II	Grupo I	Grupo II	Grupo I	Grupo II
T zero	65,5 ± 11,7	78,0 ± 8,4	62,9 ± 13,6	78,3 ± 7,7	48,3 ± 13,8	51,4 ± 17,5	1,37 ± 0,39	1,62 ± 0,40
T1 – 10h	64,5 ± 8,8	71,7 ± 10,5	63,8 ± 10,4	73,9 ± 11,3	42,1 ± 9,5	46,0 ± 10,9	1,62 ± 0,58	1,66 ± 0,37

Não houve diferença estatisticamente significativa entre os tempos e os grupos, submetidos à transformação logarítmica e à análise de variância e ao teste Tukey (P>0,05).

**Tabela34** – Velocidades máximas (cm/s) dos fluxos aórtico, tricúspide e pulmonar dos cães inoculados com placebo (grupo I) e com veneno de *Tityus serrulatus* (grupo II) antes e após 10h.

Tempo	Vel. max. fluxo aórtico (cm/s)		Vel. max. fluxo tricúspide (cm/s)		Vel. max. fluxo pulmonar (cm/s)	
	Grupo I	Grupo II	Grupo I	Grupo II	Grupo I	Grupo II
T zero	95,95 ± 14,9	107,88 ± 19,0	58,1 ± 9,9	74,7 ± 5,6	74,4 ± 5,1	92,8 ± 19,3
T1 – 10h	100,51 ± 26,7	101,73 ± 10,8	61,3 ± 7,8	64,3 ± 18,2	74,4 ± 14,2	83,6 ± 9,3

Não houve diferença estatisticamente significativa entre os tempos e os grupos submetidos à análise de variância e ao teste Tukey (P>0,05).

**Tabela 35**– Índices de função ventricular esquerda dos cães inoculados com placebo (grupo I) e com veneno de *Tityus serrulatus* (grupo II) antes e após 10h.

Tempo	TRIV (seg)		EPSS (cm)		SIV na sístole (cm)		SIV na diástole (cm)	
	Grupo I	Grupo II	Grupo I	Grupo II	Grupo I	Grupo II	Grupo I	Grupo II
T zero	0,068 ± 0,003	0,062 ± 0,007	0,411 ± 0,128	0,362 ± 0,263	1,047 ± 0,061	1,106 ± 0,116	0,737 ± 0,110	0,793 ± 0,104
T1 – 10h	0,068 ± 0,004	0,067 ± 0,002	0,415 ± 0,201	0,341 ± 0,103	1,029 ± 0,060	1,096 ± 0,151	0,781 ± 0,106	0,769 ± 0,110
Tempo	DVE na sístole (cm)		DVE na diástole (cm)		PPVE na sístole (cm)		PPVE na diástole (cm)	
	Grupo I	Grupo II	Grupo I	Grupo II	Grupo I	Grupo II	Grupo I	Grupo II
T zero	2,000 ± 0,465	2,415 ± 0,549	3,063 ± 0,591	3,528 ± 0,441	1,047 ± 0,094	1,061 ± 0,052	0,708 ± 0,062	0,756 ± 0,104
T1 – 10h	2,181 ± 0,511	2,176 ± 0,394	3,120 ± 0,638	3,301 ± 0,364	1,022 ± 0,166	1,082 ± 0,181	0,773 ± 0,103	0,758 ± 0,095
Tempo	Fração de encurtamento (%)		Fração de ejeção (%)		Volume sistólico final (ml)		Volume diastólico final (ml)	
	Grupo I	Grupo II	Grupo I	Grupo II	Grupo I	Grupo II	Grupo I	Grupo II
T zero	35,0 ± 3,2	33,5 ± 7,5	65,8 ± 4,8	62,7 ± 11,8	13,82 ± 8,0	20,8 ± 11,7	38,6 ± 17,4	52,9 ± 15,2
T1 – 10h	30,1 ± 6,2	34,2 ± 6,9	58,6 ± 9,4	64,0 ± 9,5	17,1 ± 10,9	16,5 ± 8,2	40,6 ± 20,7	44,3 ± 12,8

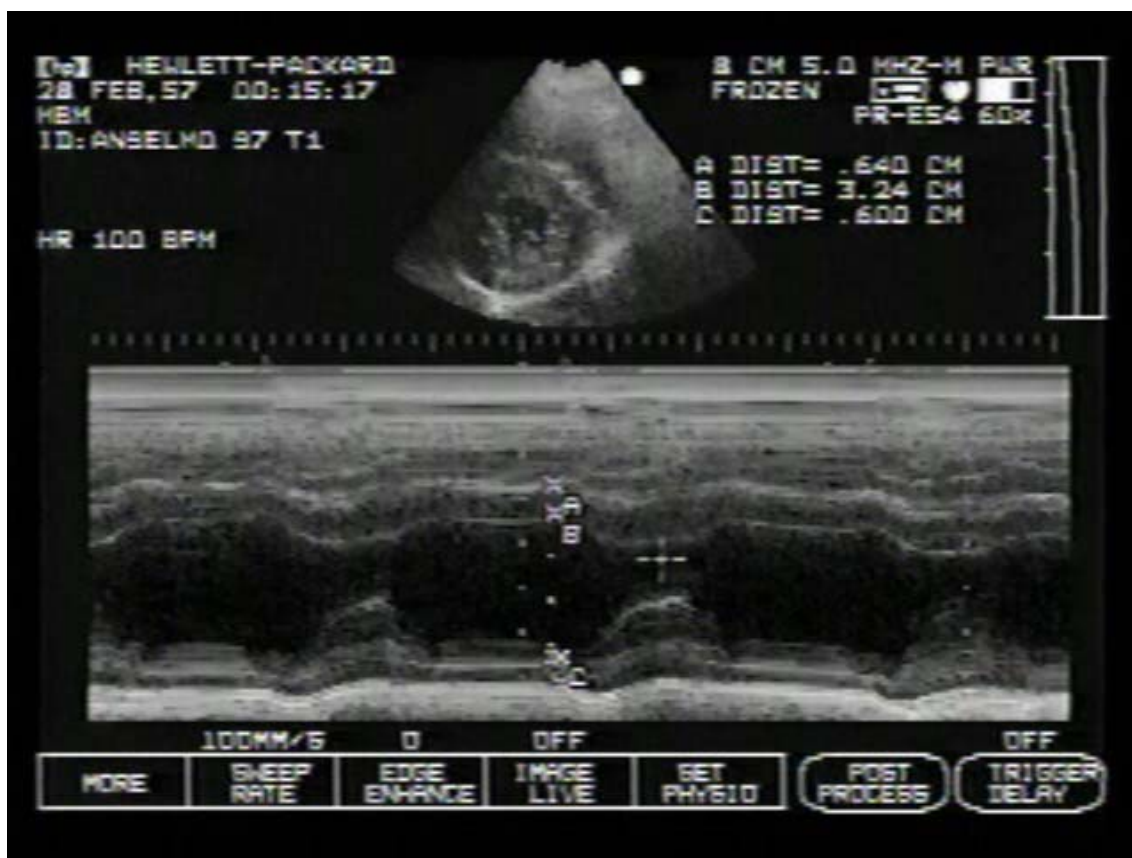
TRIV: tempo de relaxamento isovolumétrico; EPSS: distância entre o septo ventricular e a abertura máxima inicial da valva mitral; SIV: septo intraventricular; DVE: diâmetro do ventrículo esquerdo; PPVE: parede posterior do ventrículo esquerdo.

Não houve diferença estatisticamente significativa entre os tempos e os grupos, submetidos à análise de variância e ao teste Tukey (P>0,05)

Hipercalemia tende a causar efeitos graves sobre o ritmo cardíaco, como aumentos de amplitude na onda T e desaparecimento das ondas P, devido à repolarização intensa e parada elétrica do músculo atrial; o agravamento é a diminuição gradativa do ritmo, progredindo para fibrilação e assistole ventricular (Tilley, 1992; Ramirez et al., 2001). Altas concentrações de potássio diminuem o potencial de membrana em repouso das fibras musculares cardíacas; à medida que o potencial de membrana diminui, a intensidade do potencial de ação também diminui, tornando a contração do coração progressivamente mais fraca (Guyton, 1996) Experimentalmente, Cordeiro et al. (2006) observaram em cães inoculados com veneno de *T. serrulatus* inversão de onda T e/ou aumento

estatisticamente significativo de sua amplitude e das ondas P e R, também representativos de distúrbios hidroeletrólíticos.

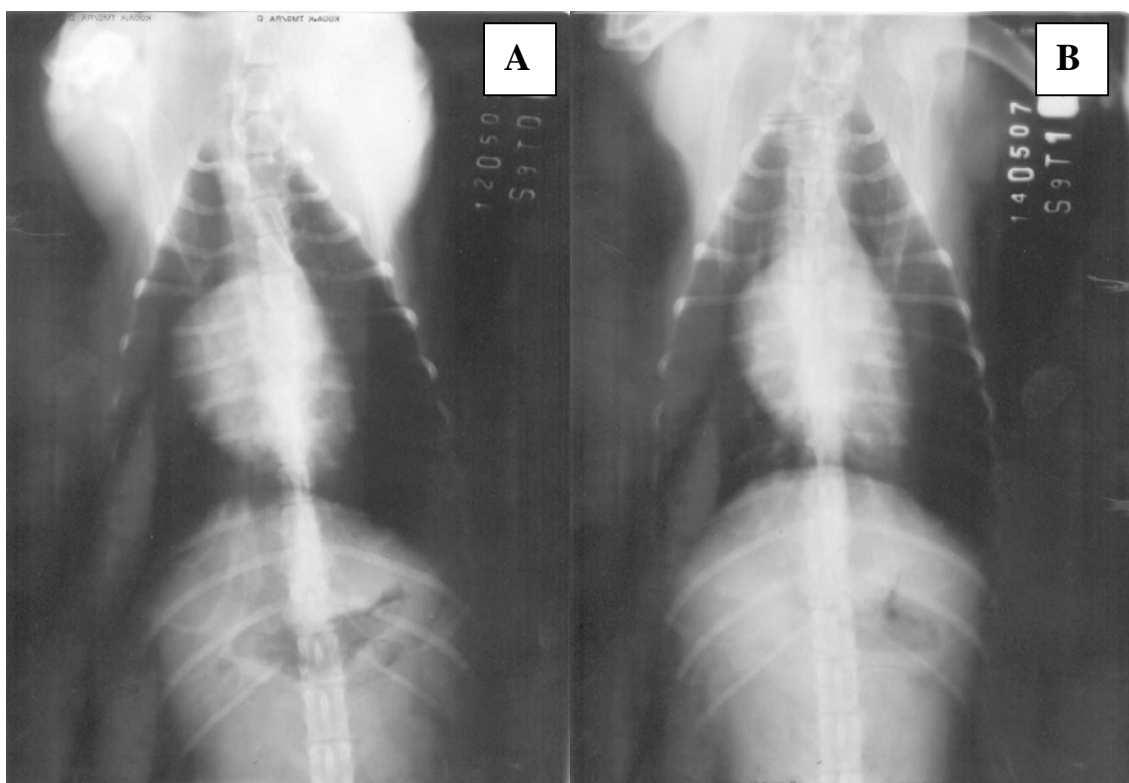
Os ecocardiogramas de pacientes com quadros clínicos graves de envenenamento escorpiónico, inclusive por *T. serrulatus*, mostram distúrbios na atividade do músculo cardíaco, causados por isquemia, hipóxia, efeito direto de catecolaminas e diminuição do aporte energético, os clássicos sinais da “Síndrome de Déficit de Energia” (Murthy e Hase, 1994; Murthy e Hagnazari, 1999). Assim, podem ser encontradas deficiências de contratilidade, caracterizadas por hipocinesia do septo ventricular e da parede posterior do ventrículo esquerdo, diminuição dos volumes sistólico e diastólico finais e da



**Figura 20** – Ecocardiograma do cão 4, Modo-M, no momento em que se fazia, durante a diástole, as medidas da espessura do septo intraventricular (A), do diâmetro interno do ventrículo esquerdo (B) e da parede posterior do ventrículo esquerdo (C).

fração de ejeção, diminuição da porcentagem de encurtamento das fibras musculares. As alterações de contratilidade são acrescidas de ativação simpática e são causas de diminuições no fluxo mitral, caracterizado por menores valores de ondas E e A. (Brand, 1988; Amaral et al., 1991; Gueron et al., 1992b; Kumar et al., 1992; Cupo et al., 1994, 2003, 2007; Abroug et al., 1995; Ismail, 1995; Cupo e Hering, 2002; Dávila et al., 2002).

Apesar da grande complexidade da ação que as catecolaminas e os outros efeitos da SEE podem desempenhar sobre o sistema cardiovascular, os cães deste experimento não apresentaram alterações no eletro e no ecocardiograma. Por conseguinte, também não foram identificadas alterações nas radiografias torácicas látero-laterais e ventro-dorsais, conforme ilustrado pela Figura 21.



**Figura 21** - Radiografias torácicas ventro-dorsais do cão 6, antes (A) e depois de 7h (B) da inoculação do veneno de *Tityus serrulatus*, mostrando inalterações das áreas cardíaca e pulmonar.

O edema pulmonar no envenenamento escorpiônico é muito relacionado à insuficiência cardíaca congestiva que é consequência da depressão da função ventricular esquerda (Gueron e Ovsyshcher, 1984, 1987; Freire-Maia e Campos, 1987;

Amaral et al., 1992; Ismail, 1995). Os fatores não-cardiogênicos de edema pulmonar, que são sempre citados, principalmente em quadros clínicos sem alterações cardíacas, são os mediadores inflamatórios que causam aumento de

permeabilidade, basicamente histamina e cininas e as citocinas cuja secreção em envenenamentos escorpionicos é aumentada (Amaral e Resende, 1997; Coelho et al., 2007).

O veneno de *T. serrulatus* parece ter causado nos cães a liberação de catecolaminas diretamente, devido ao efeito neurotóxico de suas toxinas e indiretamente devido ao estresse da dor, causando a elevação de pressão arterial. Porém, no coração, não houve alterações na condução do impulso cardíaco nem na contratilidade do miocárdio. Outros efeitos, como miocardite e desequilíbrios hidroelétrólíticos, que poderiam ter sido causados, em parte, por catecolaminas, também não ocorreram.

## 6 – CONCLUSÕES

Diante dos resultados, conclui-se que:

- as doses de 25 e 50µg/kg de veneno de *T. serrulatus*, que projetam quantidades ejetadas de veneno em acidentes naturais, causaram apenas dor local e elevação da pressão arterial nos dois cães do experimento-piloto;
- o veneno de *T. serrulatus* na dose de 250µg/kg causou uma série de discretos efeitos clínicos em cães, caracterizando esse envenenamento como de baixa gravidade.;
- os efeitos clínicos mais evidentes, manifestados pelos cães envenenados foram dor local intensa, alterações posturais, salivação, sialorréia, espirros, vômitos, dores abdominais, aumentos de volume globular e dos níveis de cortisol, glicose, insulina, AST e ALT, leucocitose com neutrofilia e elevação de pressão arterial;
- e que, cães adultos são menos sensíveis aos efeitos tóxicos do veneno de *T.*

*serrulatus*, sem alterações clássicas nos parâmetros cardiovasculares (eletro e ecocardiograma) e respiratórios quando comparados com quadros humanos.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABROUG, F.; AYARI, M.; NOUIRA, S.; et al. Assessment of left ventricular function in severe scorpion envenomation: combined hemodynamic and echo-Doppler study. *Intensive Care Medicine*, v. 21, p. 629-635, 1995.

ABROUG, F.; BOUJDARIA, R.; BELGHITH, M.; et al. Cardiac dysfunction and pulmonary edema following scorpion envenomation. *Chest*, v.100, n. 4, p.1057-1060, 1991.

ABROUG, F.; NOUIRA, S.; EL-ATROUS, S.; et al. A canine study of immunotherapy in scorpion envenomation. *Intensive Care Medicine*, v. 29, p. 2266-2276, 2003.

AKTAS, M., AUGUSTE, D.; LEFEBVRE, H. P.; et al. Creatine kinase in the dog: a review. *Veterinary Research Communications*, v. 17, p. 353-369, 1993.

ALVES, R.S.; NASCIMENTO, N.R.F.; BARBOSA, P.S.F.; et al. Renal effects and vascular reactivity induced by *Tityus serrulatus* venom. *Toxicon*, v.46, n.3, p.271-276, 2005.

AMARAL, C. F. S. A.; LOPES, J. A.; MAGALHÃES, R. A.; et al. Eletrocardiographic, enzymatic and echocardiographic evidence of myocardial damage after *Tityus serrulatus* scorpion poisoning. *The American Journal of Cardiology*, v. 67, p. 655-657, 1991.

- AMARAL, C. F. S. A.; REZENDE, N. A. Both cardiogenic and non-cardiogenic factors are involved in pathogenesis of pulmonary oedema after scorpion envenoming. *Toxicon*, v. 35, n. 7, p. 997-998, 1997.
- AMARAL, C. F. S. A.; REZENDE, N. A.; FREIRE-MAIA, L. Acute pulmonary edema after *Tityus serrulatus* scorpion sting in children. *The American Journal of Cardiology*, v. 71, p. 242-245, 1992.
- ANDRADE, M. V.; CARAMÉZ, M. P.; ABREU, E.M.N.N.; et al. Lung compliance, plasma electrolyte levels and acid-base balance are affected by scorpion envenomation in anesthetized rats under mechanical ventilation. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part C*, n. 138, p. 97-104, 2004.
- BARBOSA, J.A.R.G.; WAGNER, S.; CASTRO, M.S.; et al. The 3D homology model of the first neurotoxic peptide (Tf4) from the scorpion *Tityus fasciolatus*. In: SIMPÓSIO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE TOXINOLOGIA, 7, 2002. Pirenópolis. *Anais...* Pirenópolis:Cruzeiros, 2002, p.317.
- BARTHOLOMEW, C. Acute scorpion pancreatitis in Trinidad. *British Medical Journal*, v.1, p. 666-668, 1970.
- BATISTA, C. V. F.; GÓMEZ-LAGUNAS, F.; LUCAS, S.; et al. Tc1, from *Tityus cambridgei*, is the first member of a new subfamily of scorpion toxin that blocks K<sup>+</sup>-channels. *FEBS Letters*, n. 486, p. 117-120, 2000.
- BAWASCAR, H. S.; BAWASCAR, H. P. Vasodilators: scorpion envenoming and the heart (na indian experience). *Toxicon*, v. 32, n. 9, p. 1031-1040, 1994.
- BECERRIL, B.; MARANGONI, S.; POSSANI, L. D. Toxins and genes isolated from scorpions of the genus *Tityus*. *Toxicon*, v.5, n. 6, p. 821-835, 1997.
- BENVENUTI, L. A.; DOUETTS, K. V.; CARDOSO, J. L. C. Myocardial necrosis after envenomation by the scorpion *Tityus serrulatus*. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, v. 96, p. 275-276, 2002.
- BERTAZZI, D. T.; ASSIS-PANDOCHI, A. I.; SEIXAS, A. E. C.; et al. Effects of *Tityus serrulatus* scorpion venom and its major toxin, TsTX-I, on the complement system in vivo. *Toxicon*, v. 41, p. 501-508, 2003.
- BODOR, G. S.; PORTER, S.; LANDT, Y.; et al. Development of monoclonal antibodies for na assay of cardiac troponin I and preliminary results in suspected cases of myocardial infarction. *Clinical Chemistry*, v. 38, p. 2203-2214, 1992.
- BOOTHE, D. M. Controlling inflammation with nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Veterinary Medicine*, v. 8. p. 875-883, 1989.
- BRAND, A.; KEREN, A.; KEREM, E.; et al. Myocardial damage after a scorpion sting: long-term echocardiographic follow-up. *Pediatric Cardiology*, v. 9, n. 1, p. 59-61, 1988.
- BROBST, D. F. Pancreatic Function. In: KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*. 5ed. San Diego:Academic Press, 1997. p. 353-366.
- BUCARETCHI, F.; BARACAT, C. E.; NOGUEIRA, R. J. N. A comparative study of severe scorpion envenomation in children caused by *Tityus bahiensis* and *Tityus serrulatus*. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, v. 37, n. 4, p. 331-336, 1995.

- BÜRCHERL W. Escorpionismo no Brasil. *Memórias do Instituto Butantan*, v.34, p.9-24, 1969.
- BÜRCHERL, W. Classification, biology and venom extraction of scorpions. In: BÜRCHERL, W.; BUCKLEY, E. E. (Eds.). *Venomous animals and their, toxins*. New York:Academic Press, 1971. p. 317-348.
- BURGENER, I. A.; KOVACEVIC, A.; MAULDIN, G. N.; et al. Cardiac troponins as indicators of acute myocardial damage in dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, v. 20, n. 2, p. 277-283, 2006.
- CAMPOLINA, D. *Georreferenciamento e estudo clínico-epidemiológico dos acidentes escorpiônicos atendidos em Belo Horizonte, no Serviço de Toxicologia de Minas Gerais*. 2006. 127p. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) - Faculdade de Medicina, Universidade Federal de Minas Gerais.
- CAMPOS, J. A.; SILVA, O. A.; LOPEZ, M.; et al. Signs, symptoms and treatment of severe scorpion sting in children. *Toxicon*, v.17, Suplemento n.1, p. 1-214, 1979.
- CARDINET, G. H. Skeletal Muscle Function. In: KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*. 5ed. San Diego:Academic Press, 1997. p. 407-440.
- CARDOSO, J.L.; FAN, W.H.R.; ARAÚJO, A.A.; et al. Óbitos por escorpionismo no Brasil (1990-1993). *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v.28, p.10, 1995.
- CARDOSO, M.J.L.; SAKATE, M.; CIAMPOLINI, P.; et al. Envenomation by scorpion in dog – case report. *Journal Venom Animal Toxins incl. Tropical Disease*, , n.10, v.1, p.99. 2004.
- CARLSON, G. P. Fluid, Electrolyte and Acid-Base Balance. In: KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*. 5ed. San Diego:Academic Press, 1997. p. 485-516.
- CATTERAL, W. A. Neurotoxins the act on voltage sensitive sodium channels in excitable membranes. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, n.20, p. 15-43, 1980.
- CHÁVEZ-OLORTEGUI, C.; FONSECA, S. C. G.; CAMPOLINA, D.; et al. ELISA for detection of toxic antigens in experimental and clinical envenoming by *Tityus serrulatus* scorpion venom. *Toxicon*, v. 32, n. 12, p. 1649-1656, 1994.
- CHIPPAUX, J. P.; WILLIAMS, V.; WHITE, J. Snake venom variability: methods of study, results and interpretation. *Toxicon*, v. 29, p. 1279-1303, 1991.
- COELHO, F. M.; PESSINI, A. C.; COELHO, A. M.; et al. Platelet activating factor receptors drive CXC chemokine production, neutrophil influx and edema formation in the lungs of mice injected with *Tityus serrulatus* venom. *Toxicon*, v. 50, p. 420-427, 2007.
- CORDEIRO, F. F.; SAKATE, M.; FERNANDES V.; et al. Clinical and cardiovascular alterations produced by scorpions envenomation in dogs. *Journal of venomous animals and toxins including tropical diseases*. V. 12, n. 1, p. 19-43, 2006.
- CORRÊA, M. M.; SAMPAIO, S. V.; LOPES, R. A; et al. Biochemical and histopathological alterations induced in rats by *Tityus serrulatus* scorpion venom and its major neurotoxin tityustoxin-I. *Toxicon*, v.35, p. 1053-1067, 1997.
- COURAUD, F.; JOVER, E. Mechanism of action of scorpion toxins. In: TU, A. T



- (Ed.). *Handbook of Natural Toxins, Insects, Poisons, Allergens and other Invertebrate Venoms*, v.2. New York:Marcel Dekker, 1984. p. 659-678.
- COURAUD, F.; JOVER, E.; DUBOIS, J. M.; et al. Two types of scorpion toxin receptor sites, one related to the activations the other to the inactivation of the action potential sodium channel. *Toxicon*, 20, n.1, p. 9-16, 1982.
- CUNHA-MELO, J. R.; GONZAGA, H. M.; ALZAMORA, F.; et al. Effects of purified scorpion toxin (tityustoxin) on gastric secretion in the rat. *Toxicon*, v. 21, n. 6, p. 843-848, 1983.
- CUNNINGHAM, J. G. *Tratado de Fisiologia Veterinária*. 3ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 2004, 579p.
- CUPO, P.; AZEVEDO-MARQUES, M. M.; HERING, S. E. In: CARDOSO, J. L. C.; FRANÇA, F. O. S.; FAN, H. W.; et al. *Animais peçonhentos no Brasil: biologia clínica e terapêutica dos acidentes*. São Paulo: Salvier, 2003, p. 198-208.
- CUPO, P.; FIGUEIREDO, A. B.; PINTYA FILHO, A.; et al. Acute left ventricular dysfunction of severe scorpion envenomation is related to myocardial perfusion disturbance. *International Journal of Cardiology*, v. 116, n. 1, p. 98-106, 2007.
- CUPO, P.; HERING, S.E. Cardiac troponin I release after severe scorpion envenoming by *Tityus serrulatus*. *Toxicon*, v.40, n. 6, p. 823-830, 2002.
- CUPO, P.; JURCA, M.; AZEVEDO-MARQUES, M. M.; et al. Severe scorpion envenomation in Brazil. Clinical, laboratorial and anatomopathological aspects. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, v. 36, n. 1, p. 67-76, 1994.
- DAISLEY, H.; ALEXANDER, D.; PITT-MILLER, P. Acute myocarditis following *Tityus trinitatis* envenoming: morphological and pathophysiological characteristics. *Toxicon*, v. 37, p. 159-165, 1999.
- DÁVILA, C. A. M.; DÁVILA, D. F.; DONIS, J. H.; et al. Sympathetic nervous system activation, antivenin administration and cardiovascular manifestations of scorpion envenomation. *Toxicon*, v. 40, p. 1339-1346, 2002.
- DEHESA-DÁVILA, M.; POSSANI, L. D. Scorpionism and serotherapy in Mexico. *Toxicon*, v. 32, n. 9, p. 1015-1018, 1994.
- DINIZ, P. P. V. P.; SCHWARTZ, D. S.; COLLICCHIO-ZUANAZE, R. C. Cardiac trauma confirmed by cardiac markers in dog: two cases reports. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v. 59, n. 1, p. 85-89, 2007.
- DODDS, W. J. Hemostasis. In: KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*. 5ed. San Diego:Academic Press, 1997. p. 241-283.
- DORCE, V. A. C.; SANDOVAL, M. R. L. Effects of *Tityus serrulatus* crude venom on the gabaergic and dopaminergic systems of the rat brain. *Toxicon*, v. 32, n. 12, p. 1641-1647, 1994.
- D'SUZE, G.; COMELLAS, A.; PESCE, L.; et al. *Tityus discrepans* venom produces a respiratory distress syndrome in rabbits through an indirect mechanism. *Toxicon*, v. 37, p. 173-180, 1999.
- D'SUZE, G.; MONCADA, S.; GONZÁLEZ, C.; et al. Relationship between plasmatic levels of various cytokines, tumour necrosis factor, enzymes, glucose and venom concentration following *Tityus* scorpion sting. *Toxicon*, v.41, n. 3, p. 367-375, 2003.

- DYCE, K. M.; SACK, W. O.; WENSING, C. E. S. *Tratado de Anatomia Veterinária*. 2ed. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, 1997.
- EICKSTEDT, V.R.D. Escorpionismo por *Tityus stigmurus* no Nordeste do Brasil (Scorpiones, Buthidae). *Memórias do Instituto Butantan*, v.47/48, p.133-137, 1983/1984.
- EL-AMIN, E. O. Issues in management of scorpion sting in children. *Toxicon*, v. 30, n. 1, p. 111-115, 1992.
- EL-ASMAR, M. F. Metabolic effect of scorpion venom. In: TU, A. T (Ed.). *Handbook of Natural Toxins, Insects, Poisons, Allergens and other Invertebrate Venoms*, v.2. New York:Marcel Dekker, 1984. p. 551-575.
- FAIÇAL, S.; SHIOTA, D. Feocromocitoma: atualização diagnóstica e terapêutica. *Revista da Associação Médica do Brasil*, v. 43, n. 3, p. 237-244, 1997.
- FATANI, A. J.; FURMAN, B. L.; ZEITLIN, I. J. The involvement of plasma kinins in the cardiovascular effects of *Leiurus quinquestriatus* scorpion venom in anaesthetized rabbits. *Toxicon*, v. 36, n. 3, p. 523-536, 1998.
- FET, V.; SISSOM, W. D.; LOWE, G.; et al. Catalogue of scorpions of the world (1758-1997). In: MERWE, M; PLATINICK, N. I.; SIERVALD, P. (eds.) INTERNATIONAL CONGRESS OF ARACHNOLOGY, 14, 1998. Chicago. *Anais...*Chicago, 1998, p.16.
- FINCO, D. R. Kidney Function. In: KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*. 5ed. San Diego:Academic Press, 1997. p. 441-484.
- FLETCHER, P. L.; FLETCHER, M.; FAINTER, L. K.; et al. Action of new world scorpion venom and its neurotoxins in secretion. *Toxicon*, v.34, n. 11/12, p. 1399-1411, 1996.
- FREIRE-MAIA, L.; CAMPOS, J. A. On the treatment of the cardiovascular manifestations of scorpion envenomation. *Toxicon*, v. 25, n. 2, p. 125-130, 1987.
- FREIRE-MAIA, L.; CAMPOS, J. A.; AMARAL, C. F. S. Approaches to the treatment of scorpion envenoming. *Toxicon*, v. 32, n. 9, p. 1009-1014, 1994.
- FREIRE-MAIA, L.; FERREIRA, M. C. Estudo do mecanismo da hiperglicemia e da hipertensão arterial produzidas pelo veneno de escorpião no cão. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 59, n. 1, p. 11-22, 1961.
- FUKUHARA, Y. D. M.; DELLALIBERA-JOVILIANO, R.; CUNHA, F. Q. C.; et al. The kinin system in the envenomation caused by the *Tityus serrulatus* scorpion sting. *Toxicology and Applied Pharmacology*, n. 196, p. 390-395, 2004.
- FUKUHARA, Y. D. M.; REIS, M. L.; DELLALIBERA-JOVILIANO.; et al. Increased plasma levels of IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8, IL-10, and TNF- $\alpha$  in patients moderately or severely envenomed by *Tityus serrulatus* scorpion sting. *Toxicon*, v. 41, n. 1, p. 49-55, 2003.
- GAVRAS, H.; KREMER, D.; BROWN, J. J.; et al. Angiotensin-and-norepinephrine-induced myocardial lesions: experimental and clinical studies in rabbits and man. *American Heart Journal*, v. 89, n. 3, p. 321-332, 1975.
- GAZARIAN, K.G.; GAZARIAN, T.; HERNÁNDEZ, R.; et al. Immunology of scorpion toxins and perspectives for generation of anti-venom vaccines. *Vaccine*, v.23, n.26, p.3357-3368, 2005.

- GONÇALVES, A. A.; TOYAMA, M. H.; CARNEIRO, E. M. Participation of Na<sup>+</sup> channels in the potentiation by *Tityus serrulatus*  $\alpha$ -toxin TsTx-V of glucose-induced electrical activity and insulin secretion in rodent islet  $\beta$ -cells. *Toxicon*, v. 41, n. 8, p. 1039-1045, 2003.
- GONZAGA, H. M. S.; ALZAMORA, F.; CUNHA-MELO, J. R.; FREIRE-MAIA, L. Gastric secretion induced by scorpion toxin. *Toxicon*, v. 17, p. 316-318, 1979.
- GROSENBAUGH, D. A.; MUIR, W. W. Blood pressure monitoring. *Veterinary Medicine*, v. 38, n. 1, p. 48-59, 1998.
- GUERON, M.; ILIA, R. Non-cardiogenic pulmonary oedema after scorpion envenomation: a true entity? *Toxicon*, v. 34, n. 4, p. 393-395, 1996.
- GUERON, M.; ILIA, R.; SHAHAK, E.; et al. Renin and aldosterone levels and hypertension following envenomation in humans by the yellow scorpion *Leiurus quinquestriatus*. *Toxicon*, v. 30, n. 7, p. 765-767, 1992a.
- GUERON, M.; ILIA, R.; SOFER, S. The cardiovascular system after scorpion envenomation. A review. *Journal of Toxicology: Clinical Toxicology*, v. 30, n. 2, p. 245-259, 1992b.
- GUERON, M.; MARGULIS, G.; ILIA, R.; et al. The management of scorpion envenomation, 1993. *Toxicon*, v. 31, n. 9, p. 1071-1083, 1993.
- GUERON, M.; OVSYSHCHER, I. Cardiovascular effects of scorpion venoms. In: TU, A. T (Ed.). *Handbook of Natural Toxins, Insects, Poisons, Allergens and other Invertebrate Venoms*, v.2. New York:Marcel Dekker, 1984. p. 639-657
- GUERON, M.; OVSYSHCHER, I. What is the treatment for the cardiovascular manifestations of scorpion envenomation? *Toxicon*, v. 25, n. 2, p. 121-124, 1987.
- GUERON, M.; SOFER, S. The role of the intensivist in the treatment of the cardiovascular manifestations of scorpions envenomation. *Toxicon*, v. 32, n. 9, p. 1027-1029, 1994.
- GUERON, M.; STERN, J.; COHEN, W. Severe myocardial damage and heart failure in scorpion sting. *The American Journal of Cardiology*, v. 19, p. 71-726, 1967.
- GUERON, M.; YARON, R. Cardiovascular manifestations of severe scorpion sting: clinicopathologic correlations. *Chest*, v. 57, n.2, p. 156-162, 1970.
- GUYTON, A. C. Tratado de Fisiologia Médica. 9ed. Rio de Janeiro:Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 1996. 548p.
- HASSAN, F. Production of scorpion anivenin. In: TU, A. T (Ed.). *Handbook of Natural Toxins, Insects, Poisons, Allergens and other Invertebrate Venoms*, v.2. New York:Marcel Dekker, 1984. p. 577-605.
- HENRINQUES, M. C.; GAZZINELI, G.; DINIZ, C. R.; GOMEZ, M. V. Effect of the venom of the scorpion *Tityus serrulatus* on adrenal gland catecholamines. *Toxicon*, v. 5, p. 175-179, 1968.
- HETLAND, Ø.; DICKSTEIN, K. Cardiac troponins I and T in patients with suspected acute coronary syndrome: a comparative study in a routine setting. *Clinical Chemistry*, v. 44, n. 7, p. 1430-1436, 1998.
- HORTA, F. M. B.; CALDEIRA, A. P.; SARES, J. A. S. Escorpionismo em crianças e adolescentes: aspectos clínicos e epidemiológicos de pacientes hospitalizados. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v. 40, n. 3, p. 351-353, 2007.

- ISMAIL, M. The scorpion envenoming syndrome. *Toxicon*, v.33, n.7, p.825-858, 1995.
- ISMAIL, M.; ABD-ELSALAM, M. A. Are the toxicological effects of scorpion envenomation related to tissue venom concentration? *Toxicon*, v. 26, n. 3, p. 233-256, 1988.
- ISMAIL, M.; EL-ASMAR, M. F.; OSMAN, O. H. Pharmacological studies with scorpion (*Palamneus gravimanus*) venom: evidence or the presence of histamine. *Toxicon*, v. 13, n. 1, p. 49-56, 1975.
- ISMAIL, M.; GHAZAL, A.; EL-FAKAHANY, E. E. Cardiovascular effects of venom from the scorpion *Buthus occitanus*, Amoreux. *Toxicon*, v. 18, p. 327-337, 1980.
- ISMAIL, M.; OSMAN, O. H.; PETKOVIC, D. Eletrocardiographic studies with scorpion (*Buthus minax*, L. Koch) venom. *Toxicon*, v. 14, p. 79-83, 1976.
- JAIN, N. C. *Essentials of veterinary hematology*. Philadelphia: Lea &Febiger. 1993, 417p.
- JONES, C.T.; HUNT, P.; KING, N.W. *Patologia Veterinária*. 6 ed. São Paulo: Manole. 2000. 1415 p.
- JONES, J. L. Noninvasive monitoring techniques in anesthetized animals. *Veterinary Medicine*, v. 91, n. 4, p. 323-336, 1996.
- KALAPOTAKIS, E. Spiders and Scorpions, Biology, Venom and Toxins. In: SIMPÓSIO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE TOXINOLOGIA, 6, 2000. São Pedro. *Anais...* São Pedro: Cruzeirois, 2000, p.270.
- KALAPOTHAKIS, E.; CHAVEZ-OLÓRTEGUI, C. Venom variability among several *Tityus serrulatus* specimens. *Toxicon*, v. 35, n. 10, p. 1523-1529, 1997.
- KANEKO, J. J. Carbohydrate metabolism e its diseases. In: KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*. 5ed. San Diego:Academic Press, 1997a. p. 45-81.
- KANEKO, J. J. Serum proteins and the dysproteinemias. In: KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*. 5ed. San Diego:Academic Press, 1997b. p. 117-138.
- KANEKO, J. J.; HERVEY, J. W.; BRUSS, M. L. Appendixes. In: KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*. 5ed. San Diego:Academic Press, 1997. p. 885-905.
- KARNAD, D. R.; DEO, A. M.; APTE, N.; et al. Captopril for correcting diuretic induced hypotension in pulmonary oedema after scorpion sting. *British Medical Journal*, v. 298, p. 1430-1431, 1989.
- KJIELLESVIG-WAERING, E. N. A restudy of the fossil Scorpionida of the world. *Paleontology American*, v. 55, p. 1-287, 1986.
- KRAMER, J. W.; HOFFMANN, W. E. Clinical Enzimology. In: KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*. 5ed. San Diego:Academic Press, 1997. p. 303-325.
- KUMAR, E. B.; SOOMRO, R. S.; AL-HAMDANI, A.; et al. Scorpion venom cardiomyopathy. *American Heart Journal*, v. 123, n. 3, p. 725-729, 1992.

- LABARRÈRE, C. R.; MELO, M. M.; RIBEIRO, E. L.; et al. Leucograma de cães submetidos ao envenenamento escorpiónico experimental. In: SEMANA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFMG, 16, 2007. Belo Horizonte. *Anais...* Belo Horizonte : Pró-Reitoria de Pesquisa da UFMG, 2007.
- LIRA-DA-SILVA, R. M.; AMORIM, A. M.; BRAZIL, T. K. Envenenamento por *Tityus stigmurus* (Scorpiones; Buthidae) no Estado da Bahia, Brasil. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v. 33, n. 3, p. 239-245, 2000.
- LONGENECKER, G. L.; LONGENECKER, H. E. *Centruroides sculpturatus* venom and platelet reactivity: possible role in scorpion venom induced defibrination syndrome. *Toxicon*, v.19, p. 153-157, 1981.
- LOURENÇO W. R.; CLOUDSLEY-THOMPSON J. L.; CUELLAR O.; EICKSTEDT V. R. D.; et al. The evolution of scorpionism in Brazil in recent years. *Journal of Venomous Animals and Toxins*, v. 2, n.2, 1996.
- LOURENÇO, W. R. The scorpion families and their geographical distribution. *Journal of Venomous and Animal Toxins*, v.7, n.1, p. 3-23, 2001.
- LOURENÇO, W. R.; EICKSTEDT, V. R. D. In: CARDOSO, J. L. C.; FRANÇA, F. O. S.; FAN, H. W.; et al. *Animais peçonhentos no Brasil biologia clínica e terapêutica dos acidentes*. São Paulo: Salvier, 2003, p. 182-197.
- LOWRY, O. H.; ROSEBROUGH, N. J.; FARR, A. L.; et al. Protein measurement with folin phenol reagent. *Journal of Biology Chemistry*, v. 193, p. 265-275, 1951.
- MACHADO, J.C.; SILVEIRA FILHO, J.F. Indução de pancreatite hemorrágica aguda no cão por veneno escorpiónico de *T. serrulatus*. *Memórias do Instituto Butantan*, v.40/41, p.1-9, 1976/1977.
- MAGALHÃES, M. M.; GARBACIO, V. L.; ALMEIDA, M. B.; et al. Acid-base balance following *Tityus serrulatus* scorpion envenoming in anaesthetized rats. *Toxicon*, v.38, p. 855-864, 2000.
- MAGALHÃES, M. M.; PEREIRA, M. E. S.; AMARAL, C. F. S.; et al. Serum levels of cytokines in patients envenomed by *Tityus serrulatus* scorpion sting. *Toxicon*, v. 37, n. 8, p. 1155-1164, 1999.
- MEKI, A. R. A. M.; MOHAMED, Z. M. M.; EL-DEEN, H. M. M. Significance of assessment of serum cardiac troponin I and interleukin-8 in scorpion envenomed children. *Toxicon*, v.41, p. 129-137, 2003.
- MEKI, A. R. M. A.; EL-DEAN, Z. M. M. Serum interleukin-1 $\beta$ , interleukin-6, nitric oxide and  $\alpha$ 1-antitrypsin in scorpion envenomed children. *Toxicon*, v. 36, n.12, p. 1851-1859, 1998.
- MELO, J.R.; ARAÚJO, G.K.M.; LUZ, M. M. P. Effect of acid secretion blockade on acute gastric mucosal lesions induced by *Tityus serrulatus* scorpion toxin in anaesthetized rats. *Toxicon*, v. 48, n. 5, p. 543-549, 2006.
- MELO, M. M.; SILVA JÚNIOR, P. G. P.; LAGO, L. A.; et al. Envenenamento botrópico. *Cadernos Técnicos de Veterinária e Zootecnia*, n.44, p.59-79, 2004a.
- MELO, M.M.; SILVA JÚNIOR, P. G. P.; VERÇOSA JÚNIOR, D.; et al. Escorpionismo. *Cadernos Técnicos de Veterinária e Zootecnia*, n.44, p.90-97, 2004b.

- MENDES, T. M.; MARIA, W. S.; GRANIER, C.; et al. Epitope mapping of the antigenic protein TsNTxP from *Tityus serrulatus* scorpion venom using mouse, rabbit and sheep antibodies. *Toxincon*, v. 44, n. 6, p. 617-624, 2004.
- MERLO, F.A.; MELO, M. M.; RIBEIRO, E. L.; et al. Pressão arterial em cães submetidos ao envenenamento escorpiônico experimental. In: SEMANA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFMG, 16, 2007. Belo Horizonte. *Anais...* Belo Horizonte : Pró-Reitoria de Pesquisa da UFMG, 2007.
- MINISTÉRIO DA SAÚDE. FUNDAÇÃO NACIONAL DA SAÚDE. Manual de diagnóstico e tratamento de acidentes por animais peçonhentos. Brasília, 2001.
- MUCHA, C. J.; CAMACHO, A. A. Determinación de la presión arterial. In: BELERENIAN, G. C.; MUCHA, C. J.; CAMACHO, A. A. *Afecciones Cardiovasculares en Pequeños animales*. Buenos Aires: Inter.-Médica Editorial, 2001. p. 59-64.
- MURTHY, K. R. K.; HAGHNAZARI, L. The blood levels of glucagon, cortisol and insulin following the injection of venom by the scorpion (*Mesobuthus tamulus concanensis*, POCOCK) in dogs. *Journal of Venomous Animals and Toxins*, v. 5, n.1, p. 47-55, 1999.
- MURTHY, K. R. K.; HASE, N. K. Scorpion envenoming and the role of insulin. *Toxincon*, v. 32, n. 9, p. 1041-1044, 1994.
- NAOUM, P.C. Eletroforese: técnicas e diagnósticos. São Paulo: Livraria Santos. 1990. 174p.
- NASCIMENTO JÚNIOR, E. B.; COSTA, K. A.; BERTOLLO, C. M.; et al. Pharmacological investigation of the nociceptive response and edema induced by venom of the scorpion *Tityus serrulatus*. *Toxincon*, v. 45, n. 7, p. 585-593, 2005.
- NISHIGAWA, A.K.; CARICATI, C.P.; LIMA, M.L.; et al. Antigenic cross-reactivity among the venoms from several species of Brazilian scorpions. *Toxincon*, v.32, p. 989-998, 1994.
- NOUIRA, S.; ELATROUS, S.; BESBES, L. Neurohormonal activations in severe scorpion envenomation: correlations with hemodynamics and circulating toxin. *Toxicology and Applied Pharmacology*, n. 208, p. 111-116, 2005.
- NOVAES, G.; CATANZARO, O. L.; BERALDO, W. T.; FREIRE-MAIA, L. Effect of purified scorpion toxin (tityustoxin) on the pancreatic secretion of the rat. *Toxincon*, v. 20, n. 5, p. 847-853, 1982.
- NOVAES, G.; QUEIROZ, A. C.; QUEIROZ, A. P.; et al. Estudo histopatológico do pâncreas de ratos intoxicados pelo veneno bruto do escorpião *Tityus serrulatus*. *Revista de Ciências Médicas e Biológicas*, v. 1, n. 1, p. 1-6, 2002.
- NUNAN, E. A.; ARYA, V.; HOCHHAUS, G.; et al. Age effects on the pharmacokinetics of tityustoxin from *Tityus serrulatus* scorpion venom in rats. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, v. 37, p. 385-390, 2004.
- NUNAN, E. A.; MORAES, M. F. D.; CARDOSO, V. N.; et al. Effect of age on body distribution of Tityustoxin from *Tityus serrulatus* scorpion venom in rats. *Life Sciences*, v. 73, p. 319-325, 2003.
- OOI, D. S.; ISOLATO, P. A.; VEINOT, J. P. Correlation of antemortem serum creatine kinase, creatine kinase-MB,

troponin I, and troponin T with cardiac pathology. *Clinical Chemistry*, v. 46, n. 3, p. 338-344, 2000.

OUANES-BESBES, L.; ELATROUS, S.; NOUIRA, S.; et al. Direct vs. Mediated effects of scorpion venom: na experimental study of effects of a second challenge with scorpion venom. *Intensive Care Medicine*, v. 31, p. 441-446, 2005.

OYAMA, M. A.; SISSON, D. D. Cardiac troponin-I concentrations in dogs with cardiac disease. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, v. 18, n. 6, p. 797-799, 2004.

PARDAL, P.P.O.; CASTRO, L.C.; JENNINGS, E.; et al. Aspectos epidemiológicos e clínicos do escorpionismo na região de Santarém, Estado do Pará, Brasil. *Revista da Sociedade de Medicina Tropical*, v.36, n.3, p.349-353, 2003.

PESSINI, A.C.; SANTOS, D. R.; ARANTES, E. C.; et al. Mediators involved in the febrile response induced by *Tityus serrulatus* scorpion venom in rats. *Toxicon*, v. 48, n. 5, p. 556-566, 2006.

PESSINI, A.C.; TAKAO, T.T.; CAVALHEIRO, E.V.; et al. A hyaluronidase from *Tityus serrulatus* scorpion venom: isolation, characterization and inhibition by flavonoids . *Toxicon*, v.39, n.10, p.1495-1504, 2001.

PETRICEVICH, V. L.; CRUZ, A.H.; CORONAS, F. I. V.; et al. Toxin gamma from *Tityus serrulatus* scorpion venom play na essential role in immunomodulation of macrophages. *Toxicon*, v. 50, n. 5, p. 666-675, 2007.

PETRICEVITCHI, V. L.; PEÑA, C. F. The dynamics of cytokines and nitric oxide secretion in mice injected with *Tityus*

*serrulatus* scorpion venom. *Mediators of Inflammation*, v. 11, p. 173-180, 2002.

PLAZZI, M.I.A.; STUTZ, W.H.; PLAZZI SOBRINHO, A. Acidentes Escorpiónicos em Ituiutaba, Minas Gerais, Brasil: Um Estudo Epidemiológico Retrospectivo. 2000.

<<http://www.escorpiao.vet.br/ituiutaba.html>> - Acessado em 29/12/07

POLIKARPOV, I.; MATILDE JÚNIOR, M. S.; MARANGONI, S. Crystal structure of neurotoxin Ts1 from *Tityus serrulatus* provides insights into the specificity and toxicity of scorpion toxins. *Journal of Molecular Biology*, n. 290, p. 175-184, 1999.

POSSANI, L. D. Structure of scorpion toxins. In: TU, A. T (Ed.). *Handbook of Natural Toxins, Insects, Poisons, Allergens and other Invertebrate Venoms*, v.2. New York:Marcel Dekker, 1984. p. 513-550.

POSSANI, L. D.; FLETCHER JUNIOR, P. L.; FLETCHER, M.; et al. Structural and funtional characteristics of toxins purified from venom of the brazilian scorpion *Tityus serrulatus* Lutz and Mello. *Memórias do Instituto Butantan*, v. 54, n. 2, p. 35-52, 1992.

RAAB, W.; Key position of catecholamines in functional and degenerative cardiovascular pathology. *The American Journal of Cardiology*, v. 5, n. 5, p. 571-578, 1960.

RAMÍRES, E. Y.; PALANCA, I. M.; PABLO-BLANCO, J. B.; et al. Arritmias cardíacas em el perro y el gato. In: BELERENIAN, G. C.; MUCHA, C. J.; CAMACHO, A. A. *Afecciones Cardiovasculares en Pequeños animales*. Buenos Aires: Inter.-Médica Editorial, 2001. p. 259-288.

- RANG, H. P.; DALE, M. M.; RITTER, J. M. *Farmacologia*. 5 ed. Elsevier, Rio de Janeiro, 2004.
- REVELO, M.P.; BAMBIRRA, E.A.; FERREIRA, A.P.; et al. Body distribution of *Tityus serrulatus* scorpion venom in mice and effects of scorpion antivenom. *Toxicon*, v.34, n.10, p.1119-1125, 1996.
- REZENDE, N. A.; AMARAL, F. S.; FREIRE-MAIA, L. Immunotherapy for scorpion envenoming in Brazil. *Toxicon*, v. 36, n. 11, p. 1507-1513, 1998.
- REZENDE, N. A.; CHÁVEZ-OLORTEGUI, C.; AMARAL, C. F. S. Is the severity of *Tityus serrulatus* scorpion envenoming related to plasma venom concentrations? *Toxicon*, v.34, n. 7, p. 820-823, 1996.
- REZENDE, N. A.; DIAS, M. B.; CAMPOLINA, D.; et al. Standardization of an enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) for detecting circulating toxic venom antigens in patients stung by the scorpion *Tityus serrulatus*. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, v. 37, n.1, p. 71-74, 1995.
- RIJNBERK, A. D.; MOL, J. A. Adrenocortical Function. In: KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*. 5ed. San Diego:Academic Press, 1997. p. 553-570.
- SAMPAIO, I.B.M. *Estatística aplicada à experimentação animal*. 3ed. Belo Horizonte: Fundação de Ensino e Pesquisa em Medicina Veterinária e Zootecnia, 2007, 264p.
- SANKARAN, H.; DEVENNEY, C. W.; BARTHOLOMEW, C.; et al. Action of the venom of the scorpion *Tityus trinitatis* on pancreatic insulin secretion. *Biochemical Pharmacology*, v. 32, n. 6, p. 1001-1004, 1983.
- SANTANA, G. C.; FREIRE, A. C. T.; FERREIRA, A. P. L.; et al. Pharmacokinetics of *Tityus serrulatus* scorpion venom determined by Enzyme-Linked Immunosorbent Assay in the rat. *Toxicon*, v. 34, n. 9, p. 1063-1066, 1996.
- SILVA JÚNIOR, P. G. P.; *Avaliação clínica e laboratorial de cães tratados com extrato de Kalanchoe brasiliensis e soro antibotrópico após o envenenamento botrópico experimental* (Bothrops alternatus Duméril, 1854). 2003. 133p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.
- SILVA, D. G. K. C.; TEODORO, G. M.; SENA, L. V.; et al. Perfil eletroforético de proteínas plasmáticas: estudo em crianças atendidas no Hospital de Pediatria - Hosped/UFRN da cidade de Natal-RN. *Revista Brasileira de Análises Clínicas*, v. 37, n. 4, p. 239-242, 2005.
- SILVA, E. F. *Índices ecoDopplercardiográficos de função ventricular esquerda em cães das raças Boxer e Schnauzer Miniatura*. 2005. 33p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.
- SISSOM, W. D. Systematics, Biogeography and Paleontology. In: POLIS, G. A. (Ed.) *The Biology of Scorpions*. Standford:Standford University Press, 1990. p. 64-160.
- SLEEPER, M. M.; CIFFORD, C. A.; LASTER, L. L. Cardiac troponin I in the normal dog and cat. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, v. 15, n. 5, p. 501-503, 2001.



- SOARES, M.R.M.; AZEVEDO, C.S.; MARIA, M. Escorpionismo em Belo Horizonte, MG: um estudo retrospectivo. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v.35, n.4, p.359-363, 2002.
- SOFER, S.; GUERON, M. Respiratory failure in children following envenomation by the scorpion *Leiurus quinquestriatus*: hemodynamic and neurological aspects. *Toxicon*, v. 26, n. 10, p. 931-939, 1988.
- SOFER, S.; GUERON, M.; WHITE, R. M.; et al. Interleukin-6 release following scorpion sting in children. *Toxicon*, v. 34, n. 3, p. 389-392, 1996.
- SOFER, S.; SHALEV, H.; WEIZMAN, Z.; et al. Acute pancreatitis in children following envenomation by the yellow scorpion *Leiurus quinquestriatus*. *Toxicon*, v. 29, n.1, p. 125-128, 1991.
- SPRATT, D. P.; MELLANBY, R. J.; DRUNY, N.; et al. Cardiac troponin I: evaluation I of a biomarker for the diagnosis of heart disease in the dog. *Jornal of Small Animal Practice*, v. 46, n. 3, p. 113-114, 2005.
- STOCKHAM, S. L.; SCOTT, M. A. *Fundamentals of Veterinary Clinical Pathology*; Des Moines: Iowa State Press. 2002, 610p.
- STUTZ, W. H. Occurrence of Scorpionida in the city of Uberlândia, Minas Gerais - Brazil, 1983-1996. 2000 < <http://www.escorpiao.vet.br/tese.html> > - Acessado em 25/01/08
- TARASIUK, A.; SOFER, S. Effects of adrenergic-receptor blockade and ligation of spleen vessels on the hemodynamics of dogs injected with scorpion venom. *Critical Care Medicine*, v. 25, p. 365-372, 1999.
- TASAKA, A. C. Antiinflamatórios não-esteroidais. In: SPINOSA, H. S.; GÓRNIK, S. L.; BERNARDI, M. M. *Farmacologia Aplicada à Medicina Veterinária*. 3ed. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, 2002. p. 224-239.
- TEIXEIRA JÚNIOR, A. L.; FONTOURA, B. F.; FREIRE-MAIA, L.; et al. Evidence for a direct action of *Tityus serrulatus* scorpion venom on the cardiac muscle. *Toxicon*, v. 39, p. 703-709, 2001.
- TENNANT, B. C. Hepatic Function. In: KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*. 5ed. San Diego:Academic Press, 1997. p. 327-352.
- THOMPSON, J. P. Moléstias imunológicas. In: ETTINGER, S. J.; FELDMAN, E. C. *Tratado de Medicina Interna Veterinária*. 4ed. São Paulo: Manole, 1997. p.2616-2666.
- TILLEY, L. P. *Essentials of Canine and Feline Electrocardiography*. 3 ed. Philadelphia: Lea & Febiger, p. 1-100, 1992.
- TIZARD, I. R. *Imunologia Veterinária: uma introdução*. 6 ed. São Paulo: Roca. 2002. 532p.
- TOPPA, N.H.; MARTINS, P.; COLARES, C. N.; et al. Effect of *Tityus serrulatus* scorpion toxin on serum gastrin levels in anaesthetized rats. *Toxicon*, v. 36, n. 12, p. 1833-1842, 1998.
- VEGA, R. C. R.; POSSANI, L. D. Overview of scorpion toxins specific for Na<sup>+</sup> channels and related peptides: biodiversity, structure-function relationships and evolution. *Toxicon*, v. 46, n. 8, p. 831-844, 2005.

WAGNER, S.; CASTRO, M.S.; BARBOSA, J.A.R.G.; et al. Purification and primary structure determination of Tf4, the first bioactive peptide isolated from the venom of the Brazilian scorpion *Tityus fasciolatus*. *Toxicon*, v. 41, p.737-745, 2003.

WILLARD, M. TVEDTEN, H.; TURNWALD, G. H. *Diagnóstico clínico patológico práctico em los animales pequeños*. Buenos Aires: Intermedica. 1993. 316p.

WYATT, K. M.; LABUC, R.; WYATT, G. L. Measurement of creatine kinase MB in canine cardiac patients. *Australian Veterinary Journal*, v. 76, n. 12, p. 826, 1998.

YARON, R.; BRAUN, K.; Cardiovascular effects of scorpion venom, morphological changes in the myocardium. *Toxicon*, v. 8, n.1, p. 41-46, 1970.

YUGANDHAR, B.; MURTHY, K. R. K.; SATTAR, S. A. Insulin administrations in severe scorpion envenoming. *Journal of venomous animals and toxins*. v. 5, n. 2, p.200-219, 1999.

ZHIJIAN, C.; FENG, L.; YINGLIANG, W.; et al. Genetic mechanisms of scorpion venom peptide diversification. *Toxicon*, v. 47, n. 3, p. 348-355, 2006.





UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS  
COMITÊ DE ÉTICA EM EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL  
- CETEA -

**CERTIFICADO**

Certificamos que o **Protocolo nº 15/2006**, relativo ao projeto intitulado "**I. Caracterização bioquímica, imunológica e molecular do veneno de *Tityus fasciolatus*. II. Estudo fisiopatológico do envenenamento em cães**", que tem como responsável **Marília Martins Melo**, está de acordo com os Princípios Éticos da Experimentação Animal, adotados pelo **Comitê de Ética em Experimentação Animal (CETEA/UFMG)**, tendo sido aprovado na reunião de **12/ 07/2006**.

Este certificado expira-se em **12/ 07 / 2011**.

**CERTIFICATE**

We hereby certify that the **Protocol nº 15/2006**, related to the project entitled "**I. Biochemistry, immunology and molecular characterization of *Tityus fasciolatus* venom. II. Physiopathologic study of envenomation in dog**", under the supervision of **Marília Martins Melo**, is in agreement with the Ethical Principles in Animal Experimentation, adopted by the **Ethics Committee in Animal Experimentation (CETEA/UFMG)**, and was approved in **July 12, 2006**.

This certificate expires in **July 12, 2011**.

Belo Horizonte, 12 de Julho de 2006.

**Prof. Humberto Pereira Oliveira**  
**Presidente do CETEA/UFMG**

Universidade Federal de Minas Gerais  
Prédio da Reitoria – Campus Pampulha  
Avenida Antônio Carlos, 6627 - 7 Andar / Sala 7018  
31270-901 - Belo Horizonte, MG - Brasil  
Telefone: (31) 3499-4592 – Fax: (31) 3499-4027  
[www.ufmg.br/prpq/cetea](http://www.ufmg.br/prpq/cetea) - [cetea@prpq.ufmg.br](mailto:cetea@prpq.ufmg.br)

