

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA ANIMAL
NATHALIA ALVES DA SILVA

**ESTUDO DOS EFEITOS RENAIIS DA PEÇONHA DO ESCORPIÃO *Tityus*
stigmurus (THORELL, 1876) (SCORPIONES: BUTHIDAE) EM PERFUSÃO DE
RIM ISOLADO DE RATOS**

RECIFE
2013

NATHALIA ALVES DA SILVA

**ESTUDO DOS EFEITOS RENAIIS DA PEÇONHA DO ESCORPIÃO *Tityus stigmurus*
(THORELL, 1876) (SCORPIONES: BUTHIDAE) EM PERFUSÃO DE RIM
ISOLADO DE RATOS**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de
Pós-Graduação em Biologia Animal da Universidade
Federal de Pernambuco como parte dos requisitos para
obtenção do grau de Mestre em Biologia Animal.

Orientadora: Prof. Dra. Cleide Maria Ribeiro de Albuquerque
Co-Orientador: Prof. Dr. René Duarte Martins

RECIFE

2013

Catálogo na Fonte:

Bibliotecário Bruno Márcio Gouveia, CRB-4/1788

S586e Silva, Nathalia Alves da

Estudo dos efeitos renais da peçonha do escorpião *Tityus stigmurus* (THORELL, 1876) (Scorpiones: Buthidae) em perfusão de rim isolado de ratos / Nathalia Alves da Silva. – Recife: O Autor, 2013.

65 f. : il., fig., tab.

Orientador: Cleide Maria Ribeiro de Albuquerque

Coorientador: René Duarte Martins

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. Centro de Ciências Biológicas. Pós-graduação em Biologia Animal, 2013.

Inclui bibliografia

1. Escorpião – veneno 2. Rins – Doença I. Albuquerque, Cleide Maria Ribeiro de (orientadora) II. Martins, René Duarte (coorientador) III. Título.

595.46

CDD (22.ed.)

UFPE/CCB-2013-092

NATHALIA ALVES DA SILVA

**ESTUDO DOS EFEITOS RENAIIS DA PEÇONHA DO ESCORPIÃO *TITYUS*
STIGMURUS (THORELL 1876) (SCORPIONES:BUTHIDAE) EM PERFUSÃO DE
RIM ISOLADO DE RATOS**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de
Pós-Graduação em Biologia Animal da Universidade
Federal de Pernambuco como parte dos requisitos para
obtenção do grau de Mestre em Biologia Animal.

Data de Aprovação: ____/____/____

BANCA EXAMINADORA:

Prof^a. Dr^a. Cláudia Maria Fontes de Oliveira (1º Titular)
Departamento de Zoologia – UFPE

Prof. Dr. Rafael Matos Ximenes (2º Titular)
Departamento de Antibióticos – UFPE

Prof^a. Dr^a Jeanne Claíne de Albuquerque Modesto (3º Titular)
Núcleo de Biologia, Centro Acadêmico de Vitória – UFPE

Prof^a. Dr^a. Miriam Camargo Guarnieri (1º Suplente)
Departamento de Zoologia – UFPE

Prof^a. Dr^a. Marliete Maria Soares da Silva (2º Suplente)
Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal – UFRPE

Dedico este trabalho aos meus pais, Márcia Alves e Carlos José.

*Por todo apoio e confiança, que se fizeram presentes em toda
trajetória de minha vida.*

Exemplos de vida, fé e perseverança!

Agradecimentos

A Deus, pelo dom da vida, sabedoria e amor; por me guiar e se fazer presente em cada detalhe de minha vida.

À minha família, Márcia, Carlos, Luiz Henrique e Jacqueline, que se fizeram presente em todos os momentos, me apoiando e dando forças para vencer os obstáculos da vida, e ao pequeno Vinícius, sobrinho sapeca, mas que tia ama demais.

A Igor Ferraz, por estar sempre ao meu lado, compreendendo todas as dificuldades encontradas; pela paciência, carinho, amor e felicidades que tens proporcionado em minha vida.

A Prof^a Cleide, por ter me aceitado como orientanda, acreditado em meu potencial; por todos os puxões de orelha que me fizeram amadurecer; pela dedicação, amizade e carinho.

Ao Prof^o René, que me aguenta dentro do LAFIFA há mais de 5 anos, obrigada pela oportunidade dada, confiança e amizade; por estar sempre presente, e disposto a ajudar sempre, seja na vida profissional ou pessoal.

Aos professores do PPGBA, em especial à prof^a Verônica, prof^a Miriam, prof^o André e prof^o Paulo, obrigada pelo voto de confiança, pelos ensinamentos de vida e superação.

A Prof^a Carolina Peixoto, minha segunda mãe, minha primeira orientadora, que me proporcionou grandes conhecimentos e oportunidades, muito do que sei e sou hoje devo a senhora, obrigada por acreditar no meu potencial e por nunca ter desistido de mim.

Aos amigos de turma, da Família Canalhidae, em especial à Juliana Arandas, Danilo Cavalcanti, Leandro Andrade e

Daiana Rossi, pelas madrugadas compartilhadas, risadas e dificuldades vividas durante todo este período.

A Jaciel Oliveira, pela amizade construída, confiança e torcida para que tudo desse certo; por me aperriar todos os dias no departamento de anatomia, sendo a minha dupla dinâmica de todas as horas.

Aos amigos do LAFIFA, pela amizade e companheirismo, trazendo alegria e diversão em nosso dia a dia dentro do laboratório.

As minhas estagiárias, Adriana, Alessandra, Evelane e Liliane, vocês foram peças importantes para a realização deste estudo, muito obrigada.

Aos amigos do LIT, que me acolheram tão bem naquele ambiente de trabalho, pelas risadas, conversas, faxinas e momentos de tensão vividos em conjunto.

Ao Profº Rafael Ximenes, por todo apoio dado, pelos ensinamentos e realização dos experimentos.

Aos amigos da UFC, Roberta, Aline e Neto, muito obrigada pela ajuda e paciência; pelos ensinamentos e amizade construída.

Por fim, gostaria de agradecer a todos que contribuíram direta ou indiretamente para a realização deste trabalho.

“Faço o que gosto, por isso, não preciso trabalhar”.

Carlos Américo Fattini

RESUMO

Escorpionismo é considerado um dos acidentes mais frequentes causados por animais peçonhentos em humanos no mundo. Entretanto, as consequências da peçonha escorpiônica sobre a fisiopatologia renal permanece pouco estudada. Esse trabalho teve por objetivo estudar os efeitos da peçonha do escorpião *Tityus stigmurus* sobre os processos de filtração e transportes renais em rins isolados de rato. Três concentrações (0,3 µg/mL, 1,0 µg/mL e 3,0 µg/mL) foram testadas com solução de Krebs–Henseleit contendo 6,0g/dL de albumina bovina, cuja adição da peçonha ao sistema ocorreu 30' após início dos experimentos (n=6). Com exceção do transporte de potássio todos os parâmetros renais foram afetados pela peçonha, embora a intensidade tenha variado com a concentração e o tempo avaliados. Os efeitos mais acentuados foram registrados na concentração de 1,0 µg/mL para pressão de perfusão ($cPP_{40'} = 92,7 \pm 1,95$ mmHg; $T_{st}PP_{40'} = 182,0 \pm 4,70^*$ mmHg, $p < 0,05$); resistência vascular renal ($cRVR_{40'} = 3,28 \pm 0,23$ mmHg; $T_{st}RVR_{40'} = 6,76 \pm 0,45^*$ mmHg, $p < 0,05$); fluxo urinário ($cFU_{50'} = 0,16 \pm 0,04$ mL/g/min; $T_{st}FU_{50'} = 0,60 \pm 0,10^*$ mL/g/min, $p < 0,05$) e eliminação dos eletrólitos analisados. Em contrapartida, maior redução no transporte de eletrólitos foi registrada em 3µg/mL. Conclui-se que a peçonha de *T. stigmurus* ocasiona elevação da pressão de perfusão por aumento da resistência vascular, que culmina com natriurese e aumento na eliminação de cloreto e potássio. Os resultados geram conhecimento da ação da peçonha de *T. stigmurus* sobre a função renal, permitindo melhor avaliação quanto à assistência em casos de envenenamento.

Palavras-chave: Envenenamento. Escorpionismo. Insuficiência Renal.

ABSTRACT

Scorpionism is considered one of the most frequent accidents caused by venomous animals in humans around the world. However, the consequences of the scorpion venom on renal pathophysiology remains poorly studied. This work had as objective to study the effects of the *Tityus stigmurus* scorpion venom on the filtration processes and renal transportations in isolated rat kidneys. Three concentrations (0,3µg/mL, 1,0µg/mL e 3,0µg/mL) have been tested with the Krebs-Henseleit solution containing 6,0g/dL of bovine albumin, the venom addition of which occurred 30 minutes after the initiation of the experiments (n=6). But for the transportation of potassium, all of the renal parameters have been affected by the venom, although the intensity has varied with the concentration and time evaluated. The most pronounced effects have been registered in the concentration of 1,0µg/mL for perfusion pressure ($cPP_{40}' = 92,7 \pm 1,95 \text{ mmHg}$; $T_{st}PP_{40}' = 182,0 \pm 4,70^* \text{ mmHg}$, $p < 0,05$); renal vascular resistance ($cRVR_{40}' = 3,28 \pm 0,23 \text{ mmHg}$; $T_{st}RVR_{40}' = 6,76 \pm 0,45^* \text{ mmHg}$, $p < 0,05$); urinary flow ($cUF_{50}' = 0,16 \pm 0,04 \text{ mL/g/min}$; $T_{st}UF_{50}' = 0,60 \pm 0,10^* \text{ mL/g/min}$, $p < 0,05$) and elimination of the analysed electrolytes. On the other hand, higher reduction in electrolytes transportation has been registered in 3µg/mL. It follows that the venom of *T. stigmurus* causes elevation of the perfusion pressure through the increasing of vascular resistance, which culminates with natriuresis and increase in the elimination of chloride and potassium. The results generate knowledge of the *T. stigmurus* venom action on the renal function, allowing better evaluation regarding assistance in cases of poisoning.

Key words: Scorpionism; Poisoning; Renal Failure

LISTA DE ABREVIATURAS

% TCl ⁻	Porcentagem do transporte de íon cloreto
% TK ⁺	Porcentagem do transporte de íon potássio
% TNa ⁺	Porcentagem do Transporte de íon sódio
ANOVA	Análise de Variância
Cl ⁻	Íon Cloreto
DL50	Dose Letal para 50% dos animais
ECA	Enzima conversora de angiotensina
ECl ⁻	Excreção de íon cloreto
EK ⁺	Excreção de íon potássio
ENa ⁺	Excreção de íon sódio
FU	Fluxo Urinário
K ⁺	Íon potássio
MKHS	Solução modificada de Krebs-Henseleit
Na ⁺	Íon Sódio
PGE2	Prostaglandina E2
PP	Pressão de Perfusão
RFG	Ritmo de Filtração Glomerular
RVR	Resistência Vascular Renal
TsV	Peçonha de <i>Tityus stigmurus</i>

SUMÁRIO

1. Referencial Teórico	
1.1. Escorpionismo: aspectos gerais.....	13
1.2. Principais espécies de importância médica.....	14
1.2.1. <i>Tityus serrulatus</i>	14
1.2.2. <i>Tityus bahiensis</i>	15
1.2.3. <i>Tityus obscurus</i>,	15
1.2.4 <i>Tityus stigmurus</i>	16
1.3. Situação atual do escorpionismo no Brasil.....	18
1.4. Peçonha de Escorpiões.....	20
1.4.1. Aspectos químicos.....	21
1.4.2. Modo de ação, consequências fisiológicas e farmacológicas.....	22
1.5. Fisiologia renal e mecanismos de nefrotoxicidade induzida por peçonhas animais.....	24
1.5.1 Sistema de perfusão renal.....	29
2. Justificativa.....	31
3. Objetivos.....	31
3.1. Objetivo geral.....	31
3.2. Objetivos específicos.....	31
4. Referências Bibliográficas.....	32
5. Manuscrito a ser submetido à Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo (Qualis: B1 – Área: Biodiversidade).....	43

5.1. Efeitos Renais da Peçonha de <i>Tityus stigmurus</i> (Thorell, 1876) (Scorpiones: Buthidae) em perfusão de rins isolado de ratos.....	44
5.2. Abstract.....	45
5.3 Resumo.....	45
5.4. Introdução.....	46
5.5. Materiais e Métodos.....	48
5.6. Resultados.....	51
5.7. Discussão.....	52
5.8. Agradecimentos.....	54
5.9. Referências Bibliográficas.....	55
6. Anexo.....	61

1. Referencial Teórico

1.1. Escorpionismo: aspectos gerais

Escorpionismo é o nome dado a acidentes causados por escorpiões, cujo quadro de envenenamento decorre da presença de toxinas contidas na peçonha inoculada no indivíduo. Esse tipo de acidente ocupa o segundo lugar na posição dos acidentes por animais peçonhentos em humanos, no mundo, e apresenta significativo número de casos de morbidade (CHIPPAUX; GOYFFON, 2008).

As quase 1.900 espécies de escorpiões conhecidas atualmente, considerando-se viventes e fósseis (STOCKMAN; YTHIER, 2010), estão distribuídas em 16 famílias, destacando-se Buthidae e Scorpionidae como as de maior importância médica no mundo (REDDY, 2013). A família Buthidae abrange cerca de 30 espécies, distribuídas em oito gêneros (CHIPPAUX; GOYFFON, 2008), destacam-se na África e Oriente Médio, *Androctonus* (EHRENBERG, 1828), *Buthacus* (BIRULA, 1908), *Buthus* (LEACH, 1815) e *Leiurus* (EHRENBERG, 1828), enquanto *Parabuthus* (POCOCK, 1890), tem registro apenas na África (POLIS, 1990; KHATTABI *et al.*, 2011). O gênero *Mesobuthus* (VACHON, 1950), é mais comum na Índia e *Centruroides* (MARX, 1890) se distribui desde o sul dos Estados Unidos até o norte da América do Sul (FET, *et al.*, 2000). Ainda nas Américas registra-se o gênero *Tityus* (C.L. KOCH, 1836) distribuído pelas Américas Central, do Sul e Caribe (PETRICEVICH, 2010).

A incidência de escorpionismo é particularmente elevada nos centros urbanos e está associada às condições favoráveis de alimentação e abrigo fornecidas aos escorpiões pelas habitações humanas, com acúmulo de entulhos, lixo, saneamento básico precário (ou impróprio) e alta densidade demográfica. A gravidade do acidente escorpiônico tem um aspecto complexo que pode ser influenciado por diferentes fatores como, por exemplo, a espécie e o tamanho do escorpião, a quantidade de peçonha inoculada, a massa corporal e idade da vítima, além da sensibilidade da vítima a peçonha e o tempo entre a picada e a administração do soro (DITTRICH *et al.*, 1995; LIRA-DA-SILVA *et al.*, 2000; De ROODT *et al.*, 2003; CESARETLI; OZKAN, 2010).

1.2 Principais espécies de importância médica

A escorpiofauna brasileira é representada por quatro famílias, Liochelidae, Chactidae, Bothriuridae e Buthidae, compreendendo 23 gêneros e 131 espécies (BRAZIL; PORTO *et al.*, 2010). O gênero *Tityus* constitui-se como o de maior número de espécies descritas da ordem Scorpiones (FET *et al.*, 2000), englobando as de importância para saúde pública no país. Esses escorpiões podem ser encontrados em toda América do Sul e Caribe (POLIS, 1990).

No Brasil as espécies *Tityus serrulatus* (Lutz & Melo, 1922), *Tityus bahiensis* (PERTY, 1833), *Tityus obscurus* (GERVAIS, 1843) e *Tityus stigmurus* (THORELL, 1876) (BRASIL, 2009) possuem peçonhas suficientemente potentes para causar acidentes escorpiônicos fatais, principalmente em crianças e idosos (BORGES, 1996; LIRA-DA-Silva *et al.*, 2000; BARÃO *et al.*, 2008; BORGES *et al.*, 2008). Acidentes apresentando quadro clínico com sinais e sintomas leves ou moderados têm envolvido outras espécies como *T. costatus* (KARSCH 1879), *T. brazila* (LOURENÇO; EICKSTEDT, 1984), *T. fasciolatus* (PESSOA, 1935), *T. metuendus* (POCOCK, 1897), *T. neglectus* (MELLO-LEITÃO, 1932), *T. mattogrossensis* (BORELLI, 1901), *T. trivittatus* (KRAEPELIN, 1898) (LOURENÇO; CLOUDSLEY-THOMPSON, 1999) e *T. pusillus* (POCOCK, 1893) (ALBUQUERQUE, *et al.*, 2009).

1.2.1. *Tityus serrulatus* – Mais conhecido como o escorpião amarelo (Figura 1-A) é responsável pelo alto índice de óbitos decorrentes de acidentes por escorpiões no Brasil. Possui as pernas e cauda amarelo-clara, e o tronco escuro. Sua ocorrência é predominante na região sudeste do país, com grande número de acidentes em Minas Gerais e São Paulo, mas também é encontrado nos estados do Paraná, sul de Goiás, Bahia e Ceará (TORRES, *et al.*, 2002; ALVES, *et al.*, 2007; SOUZA, *et al.*, 2009). Seu nome se deve à presença de serrilhas nos 3º e 4º anéis da cauda (Figura 1-A), podendo medir até 7 cm de comprimento (LOURENÇO; CLOUDSLEY-THOMPSON, 1999).

Esta espécie é composta principalmente por fêmeas que realizam uma reprodução assexuada (Partenogenética), embora machos tenham sido descritos a partir

de exemplares coletados em Minas Gerais e depositados no MNRJ (Museu Nacional do Rio de Janeiro e (IBSP), Instituto Butantan São Paulo (SOUZA et al., 2009). A condição partenogenética favorece sua proliferação e dispersão. Essa espécie também apresenta uma fácil adaptação ao ambiente urbano e possui alta competitividade e dominância, características que podem desencadear um processo de redução e desaparecimento de outras espécies (SILVA et al., 2005).

1.2.2 *Tityus bahiensis* (Figura 1-B) – Popularmente chamado de escorpião marrom é a espécie-tipo do gênero *Tityus* (FET, 2000). Possui corpo e cauda de coloração marrom escuro, por vezes avermelhada, e as pernas são marrom alaranjadas com manchas em marrom-escuro (POLIS, 1990; LOURENÇO, 2002; MARCUSSI, et al., 2011). Não apresenta serrilha na cauda, e o adulto mede cerca de 7 cm. Sua distribuição abrange a região Sul do Brasil e os estados de Minas Gerais, São Paulo, Goiás, Bahia, Espírito Santo, Rio de Janeiro, Mato Grosso e Mato Grosso do Sul (TORRES, et al., 2002; BRASIL, 2009). Esta espécie está adaptada a campos, cerrados e matas ralas, abrigando-se sob pedras e cupinzeiros.

T. bahiensis é considerado a espécie modelo do gênero *Tityus* por sua reprodução ser sexuada, com a presença de machos e fêmeas que apresentam características morfológicas diferenciais, possibilitando uma rápida identificação, através da visualização da tíbia dos pedipalpos, que é maior no macho, bem como ainda no macho pela abertura entre os dedos fixo e móvel onde o lobo basilar é mais acentuado (OUTEDA-JORGE, et al., 2010; OLIVEIRA, et al., 2011).

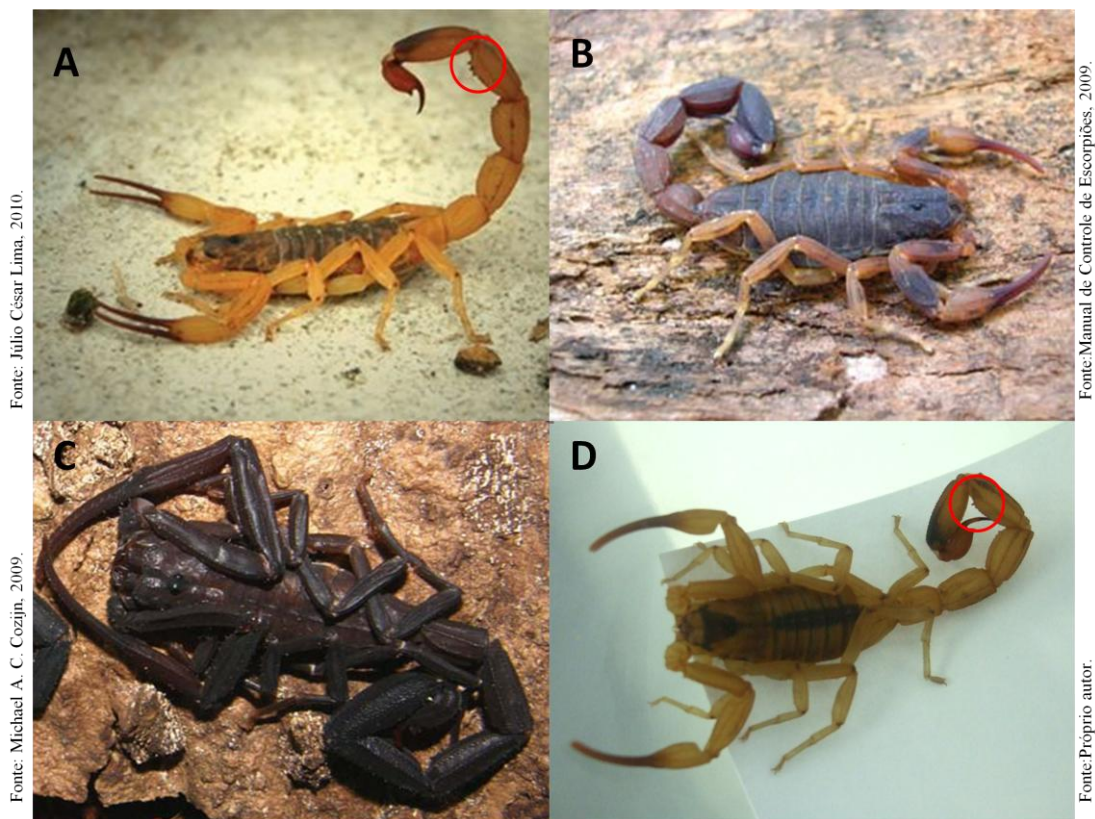
1.2.3 *Tityus obscurus* (Figura 1-C) - é conhecido como escorpião preto da Amazônia, comum na Região Norte do país, principalmente no Pará e Amapá, recentemente encontrado no Mato Grosso (BRASIL, 2012). Essa espécie também é conhecida com outras denominações sistemáticas como *T.cambridgei* Pocock 1897, *T. paraensis* Kraepelin 1896 (LOURENÇO & LEGUIN, 2008; GUERRERO-VARGAS, 2012), *T.amazonicus* Giltay 1928, *T. weneri* Mello-Leitão 1931, *T. sampaiocrulsi* Mello-Leitão 1931 (LOURENÇO, 2008). *T. piceus* Caporiacco 1947 é um sinônimo júnior de *T.cambridgei* Pocock 1897 (KOVÁŘIK, 1999) (COZIIN, 2009).

Sua coloração muda de acordo com seu crescimento, na fase jovem, onde seu corpo e apêndices apresentam uma coloração castanha com manchas escuras, que

podem ser facilmente confundidos com outras espécies da região Amazônica. Quando atinge a idade adulta, apresentam coloração negra e podem medir até nove cm de comprimento (BRASIL, 2009). Esta espécie apresenta forte dimorfismo sexual, os machos adultos possuem pedipalpos mais longos e segmentos metassomais mais esguios (KEEGAN, 1998). Acidentes fatais em duas crianças no Pará foram atribuídos a *T. obscurus* (MAESTRI-NETO *et al.*, 2008). No entanto, Pardal *et al.*, (2003) indicaram que a peçonha desse escorpião pode apresentar efeitos distintos. Em Santarém, a peçonha de *T. obscurus* causou principalmente alterações neurológicas, enquanto que na capital, Belém, o envenenamento apresentou apenas sintomas leves como dor, edema e eritema no local da picada. Devido ao baixo número de acidentes os diferentes efeitos de sua peçonha permanece pouco esclarecidos.

1.2.4 *Tityus stigmurus* – O escorpião *Tityus stigmurus* (Figura 1-D) é referido como o principal responsável pelos acidentes escorpiônicos em todo o Nordeste, sendo os estados da Bahia, Pernambuco, Alagoas e Rio Grande do Norte os mais afetados (BRASIL, 2009). De acordo com (FREITAS; VASCONCELOS, 2008), essa espécie também ocorre na ilha de Fernando de Noronha. O primeiro caso relatado com experiência clínica e terapêutica de acidente escorpiônico causado por *T. stigmurus*, ocorreu em 1983, onde foi registrado acidente fatal com uma criança picada por essa espécie em Recife, Pernambuco (ELKESEBEL 1983-1984 *apud* LIRA-DA-SILVA, 2000).

Figura 1: Principais espécies de escorpiões de importância médica no Brasil.



Nota: A: *Tityus serrulatus* evidenciando as serrilhas no quarto segmento do metassoma (círculo vermelho); B: *Tityus bahiensis*; C: *Tityus obscurus*; D: *Tityus stigmurus* com círculo evidenciando serrilhas.

De hábitos semelhantes a *T. serrulatus*, *T. stigmurus* apresenta características corporais próprias como uma faixa escura longitudinal na parte dorsal de seu corpo, seguido de uma mancha triangular no prossoma (LOURENCO; CLOUDSLEY-THOMPSON, 1999; SOUZA, *et al.*, 2009; PORTO *et al.*, 2010; MARCUSSI *et al.*, 2011). Possui serrilhas nos 3º e 4º anéis da cauda, porém menos acentuada do que *T. serrulatus* (BRASIL, 2009). A maioria dos autores indica a partenogênese como tipo de reprodução predominante nessa espécie (LOURENCO; CLOUDSLEY-THOMPSON, 1999; FRANCKE, 2007; ROSS, 2010) embora o registro eventual de machos na natureza sugira a possibilidade de ocorrência de reprodução sexuada (SOUZA *et al.*, 2009). Ainda que a diferenciação entre machos e fêmeas seja dificultada pela ausência de caracteres dimórficos acentuados, Souza e colaboradores (2009) descreveram alguns

caracteres que possibilitam a diferenciação sexual em *T. stigmurus*. Essas diferenças estariam associadas ao tamanho dos segmentos do metassoma sendo maiores no macho do que na fêmea (fêmea: segmentos I = 3,3 mm; II = 3,3 mm; III = 3,3 mm; IV = 3,5 mm; V = 3,2 mm; macho: I = 4,8 mm; II = 5,0 mm; III = 5,0 mm; IV = 4,7 mm; V = 4,1 mm). Outro parâmetro considerado refere-se aos segmentos curtos do pedipalpo (fêmea: fêmur = 5,7 mm; tíbia = 6,3 mm; quela = 11,7 mm; macho: fêmur = 6,3 mm; tíbia = 7,1 mm; quela = 12,2 mm).

1.3. Situação atual do escorpionismo no Brasil

Os primeiros estudos sobre escorpionismo no Brasil datam do início do século XX, por iniciativa do médico Vital Brazil, primeiro diretor do Instituto Butantan (São Paulo) (BRAZIL, 1907 *apud* BRAZIL *et al.*, 2009). Em 1905, Vital Brazil iniciou os primeiros testes para produção de um soro eficaz para o tratamento dos acidentes por escorpiões, visto que já demonstravam gravidade em suas picadas. Para identificação desses animais, Vital Brazil contou com a colaboração do zoólogo Rodolpho Von Ihering, que os identificou como pertencentes ao gênero *Tityus* (LUCAS, 2003).

Atualmente, dentre os acidentes com animais peçonhentos, o escorpionismo destaca-se como o de maior incidência no Brasil (BRASIL, 2012). No período compreendido entre os anos 2000 a 2010, os relatos de aspectos epidemiológicos e clínicos dos casos de escorpionismo no país, indicaram um aumento na incidência de acidentes, passando de 7,5 para 26,3 acidentes/100.000 habitantes, com taxa de letalidade de aproximadamente 0,2% (BRAZIL, 2010; BRASIL, 2012). Situações localizadas tendo como base dados dos boletins emitidos pelo Ministério da Saúde, tem sido descritos por diversos autores: Lira-Da-Silva *et al.*, 2000 (Salvador, Bahia) Albuquerque *et al.*, 2004 (Campina Grande, Paraíba) Penedo e Schlindwein, 2004, (Piauí) Alves *et al.*, 2007 (Ceará) e Maestri Neto *et al.*, 2008, (Pará).

A faixa etária com maior número de casos de acidentes registrados está entre 20 e 49 anos (47,6%), e não há uma distinção significativa entre os sexos afetados. No entanto, crianças entre 1 e 14 anos são mais vulneráveis a peçonha, estando estas na faixa etária com maior número de óbitos principalmente naqueles que, na vigência do

quadro sistêmico, recebem atendimento em seis horas ou mais horas após a picada (LIRA-DA-SILVA *et al.*, 2000; SOARES *et al.*, 2002; MARCUSSI *et al.*, 2011).

A fácil adaptação de várias espécies de escorpiões às condições urbanas (ALVES, *et al.*, 2007) somada a ausência de seus predadores (LOURENÇO, 2008), colabora para o crescente aumento no número de acidentes domésticos no Brasil (ALVES, *et al.*, 2005). Esses acidentes costumam ocorrer com maior frequência nos meses mais quentes e chuvosos, entre outubro e março, embora a variação anual seja pequena. Apesar da região Nordeste apresentar o maior índice de acidentes escorpiônicos, o estado de Minas Gerais é a unidade federativa que registra o maior número de casos no país (BRASIL, 2011).

Entre 2000 e 2010, um aumento significativo na incidência média/100.000 habitantes foi notificado nos estados de Alagoas (94,3), Bahia (40,9), Ceará (6,4) e Rio Grande do Norte (48,8) (BRASIL, 2011). As vítimas são picadas com maior frequência nos dedos das mãos e os pés (23,9% e 21,5%, respectivamente) (PARDAL *et al.*, 2003; ALVES, *et al.*, 2007). O envenenamento pode ser considerado como leve, moderado ou grave (LIRA-DA-SILVA *et al.*, 2000; BRASIL, 2009). Estes parâmetros estão relacionados ao aparecimento das manifestações locais e sistêmicas no indivíduo. Em geral, nas manifestações consideradas leves, após a picada, o indivíduo apresenta dor local intensa ou irradiada, discretos edema e eritema, sudorese local e piloereção. O tratamento para as manifestações leves se dá através de medidas que visem o alívio da dor como aplicação de anestésicos locais ou analgésicos sistêmicos (BRASIL, 2008; KHATTABI *et al.*, 2011).

A caracterização para os casos moderados e graves pode sofrer variação de acordo com a espécie de escorpião envolvida. No Brasil, a sintomatologia dos acidentes moderados acometidos por *T. serrulatus* caracterizam-se, além dos sintomas locais supracitados, por manifestações sistêmicas que aparecem em poucos minutos ou até três horas após a picada. Em geral, a vítima de *T. serrulatus* apresenta náuseas, vômitos, taquicardia, taquipneia, priapismo, salivação, agitação e hipertensão arterial (BRASIL, 2009). Para casos de envenenamento por *T. stigmurus*, entretanto, os sintomas moderados dos distúrbios gerais são menos frequentes e, quando presentes, as vítimas são acometidas por cefaleias, vômitos, sudorese, tremor, extremidades frias, agitação e tontura (LIRA-DA-SILVA *et al.*, 2000; BRASIL, 2009)

O aparecimento de vômitos profusos e frequentes se torna um importante sintoma para reconhecimento de casos graves causados por *T. serrulatus*. Estes podem ser seguidos de sudorese profusa, palidez, confusão mental, agitação psicomotora, sialorreia, hipertensão ou hipotensão, bradicardia, colapso cardiovascular, choque e edema agudo pulmonar, podendo chegar a óbito (BRASIL, 2009). Raramente, *T. stigmurus* causa acidentes graves, salvo quando a vítima é criança, neste caso pode levar a óbito. Em crianças a sintomatologia em decorrência dos acidentes graves são similares aos sintomas presentes nos acidentes provocados por *T. serrulatus*.

O soro antiescorpiônico ou antiaracnídico é indicado para estas classificações, podendo ser administrado, dependendo da gravidade dos sintomas, duas a seis ampolas de soro. Nesses casos, o paciente deve ser mantido em unidade de terapia intensiva para monitoramento das funções vitais (FUNASA, 2001; BRASIL, 2008).

1.4. Peçonha de escorpiões

Todos os escorpiões possuem peçonha e a usam prioritariamente na imobilização das presas e secundariamente como defesa (POLIS, 1990; PETRICEVICH, 2010; MARCUSSI *et al.*, 2011).

A peçonha escorpiônica é produzida por duas glândulas localizadas no último segmento metassomal do animal, o télson, que se termina por meio de um aguilhão. Na ponta do aguilhão encontram-se duas pequenas aberturas que inoculam a peçonha vítima.

Frequentemente o escorpião é referenciado como um animal venenoso, no entanto, esse termo refere-se aquele animal que produz toxina, mas não possui estruturas inoculadoras para injetá-las, como por exemplo, as rãs. Animais peçonhentos, no entanto, além de produzirem toxina, possuem estruturas especializadas para sua inoculação, como ocorre nos escorpiões. As peçonhas de escorpiões, em sua maioria, possuem características proteicas e são inativadas por via enteral. Consistem principalmente de peptídeos (VASCONSCELOS, 2006).

1.4.1 Aspectos químicos

De aspecto mucoso e leitoso, a peçonha dos escorpiões é constituída de muco insolúvel, mucopolissacarídeos, oligopeptídeos, nucleotídeos, inibidores de proteases, liberadores de histamina, aminoácidos, enzimas (hialuronidase), lípidos. Além das diversas proteínas básicas de baixo peso molecular (neurotoxinas), serotonina ou histamina, fazem parte da composição da peçonha, atuando na modulação dos canais iônicos de membranas biológicas (POSSANI *et al.*, 1984; MULLER, 1993; GWEE *et al.*, 2002; VASCONCELOS *et al.*, 2005). Essa composição varia não apenas entre gêneros e espécies, mas também pode diferir dentro de uma mesma espécie. Ainda por motivos desconhecidos, regiões geográficas também podem estar relacionadas a estas variações (WATT; SIMARD, 1984).

Dentre as espécies mais peçonhentas no Brasil, *T. stigmurus* apresenta a de maior toxicidade (DL50 = 0,773 mg/Kg), seguido de *T. bahiensis* (DL50 = 1,062mg/Kg) e *T. serrulatus* (DL50 = 1,160mg/Kg). A peçonha de *T. obscurus* tem sido considerada de média toxicidade (DL50= 12,136 mg/kg) (NISHIKAWA *et al.*, 1994). Becerril e colaboradores (1996) utilizando anti-soros específicos produzidos em cavalos e coelhos compararam as peçonhas de *T. stigmurus*, *T. serrulatus* e *T. bahiensis* e concluíram que estas possuem alto grau de reatividade cruzada, bem como apresentam semelhanças em seus componentes tóxicos e, organização do processamento e expressão de seus genes. No entanto, o anti-soro proveniente da peçonha de *T. serrulatus* e *T. bahiensis* parece não produzir efeitos sobre o sistema nervoso em pessoas envenenadas por *T. obscurus* na região de Santarém, norte do estado do Pará. O que não ocorre na capital, Belém, onde o soro antiescorpiônico se torna eficaz em relação às atividades neutóxicas da peçonha (FIORAVANTI, 2010). Estudos sobre composição da peçonha e genética desses escorpiões estão sendo desenvolvidos atualmente.

O fato de *T. stigmurus* apresentar a maior dose letal para 50% das vítimas (DL₅₀) não o coloca como o maior causador de acidentes fatais. Esse evento pode ser justificado pelo controle da glândula, exercido através dos músculos, influenciando a quantidade da peçonha injetada no momento da picada (MARCUSSE *et al.*, 2011). Embora com menor toxicidade, a maior quantidade de peçonha injetada por *T.*

serrulatus, no momento da picada seria o fator determinante de acidentes mais graves quando comparado a *T. stigmurus* (LIRA-DA-SILVA *et al.*, 2000; MITRE, 2001).

A maioria dos sinais e sintomas observados no envenenamento por escorpião é atribuída à presença de peptídeos neurotóxicos na peçonha. Esses peptídeos apresentam quantidade variada de aminoácidos em sua composição, sendo normalmente de cadeia curta (BATISTA *et al.*, 2007). De acordo com suas características estruturais e efeitos fisiológicos, como a afinidade pelos canais iônicos, os peptídeos são categorizados em quatro grandes classes:

- 1- Toxinas que atuam nos canais de sódio - compreendem 60 a 76 resíduos de aminoácidos, estabilizados por quatro pontes dissulfeto e são divididos em dois grupos: alfa-neurotoxinas e beta-neurotoxinas (GORDON *et al.*, 1998; POSSANI *et al.*, 1999; CESTE`LE; CATTERALL, 2000). Estas são as principais responsáveis pelos efeitos tóxicos do envenenamento (RODRIGUEZ DE LA VEJA; POSSANI, 2005).
- 2- Toxinas com afinidade pelos canais de potássio - apresentam 29 a 41 resíduos de aminoácidos, contendo de três a quatro pontes dissulfeto (POSSANI *et al.*, 2000). São classificadas em quatro famílias, alfa, beta, gama e k-KTx (CORONA *et.al.*, 2002; DHAWAN *et al.*, 2003; SRINIVASAN *et al.*, 2002; CHAGOT *et al.*, 2005).
- 3- Toxinas que se ligam aos canais de cloreto - também apresentam peptídeos de cadeia curta, com até quarenta resíduos de aminoácidos, e possuem quatro pontes dissulfeto (BECERRIL *et al.*, 1996).
- 4- Toxinas que se ligam aos canais de cálcio - possuem número variado de peptídeo, podendo apresentar cadeias longas e curtas. Segundo Oliveira (2011) ainda não há descrição das toxinas que agem nos canais de cálcio para o gênero *Tityus*.

1.4.2. Modo de ação, consequências fisiológicas e farmacológicas

A nível molecular, os efeitos das toxinas escorpiônicas nos canais iônicos, particularmente nos de sódio, levam à despolarização das terminações nervosas pós-ganglionares dos sistemas simpático e parassimpático (CUPO *et al.*, 1994; BECERRIL *et al.*, 1997) resultando na liberação elevada de neurotransmissores, principalmente

adrenalina, noradrenalina e acetilcolina, que causam a maioria dos sinais e sintomas farmacológicos decorrentes do envenenamento escorpiônico humano (CUPO *et al.*, 1994; TEIXEIRA *et al.*, 2001; MARCUSSI *et al.*, 2011). Dentre as alterações fisiológicas destacam-se os distúrbios do ritmo cardíaco, renais, choque, arritmias respiratórias e insuficiência cardíaca (SILVA *et al.*, 2005; VASCONCELOS *et al.*, 2005; CARDOSO *et al.*, 2009).

Estudos em vertebrados mostraram que a peçonha de escorpião distribui-se rapidamente do sangue para os tecidos. Após a injeção venosa (ISMAIL & ELSALAM, 1988; OLIVEIRA, 2011) e intraperitoneal (BERTAZZI *et al.*, 2003) da peçonha em ratos e/ou camundongos, as concentrações mais altas das toxinas são detectadas nos rins, seguidos pelo fígado, pulmões, e coração. Em relação aos efeitos renais decorrentes da peçonha escorpiônica, poucos relatos são encontrados na literatura. Em perfusão de rins isolados de ratos, a peçonha de *T. serrulatus* provocou alterações na função renal elevando parâmetros como pressão de perfusão (PP) e resistência vascular renal (RVR), provavelmente por ação vasoconstrictora direta (ALVES *et al.* 2005). Em humanos, alterações dos níveis plasmáticos de uréia e creatinina após acidentes com essa espécie de escorpião indicam possíveis danos causados pelas toxinas da peçonha sobre a fisiologia renal. A ligação de componentes da peçonha ao rim pode potencialmente provocar insuficiência renal aos pacientes picados por escorpião, dependendo da quantidade de peçonha inoculada e da massa corpórea do indivíduo (NUNAN *et al.*, 2003; ALVES *et al.*, 2005).

A liberação maciça de níveis elevados de catecolaminas e acetilcolinas circulantes faz com que haja um aumento no acúmulo de cálcio intracelular que, por sua vez, aumenta a força cardíaca, a pressão sanguínea e o consumo de oxigênio cardíaco (VASCONCELOS *et al.*, 2005), podendo desenvolver insuficiência ventricular esquerda aguda, resultando numa insuficiência do miocárdio (SILVA, *et al.*, 2005).

A diarreia, por vezes intensa, é um dos sintomas menos frequente no envenenamento, entretanto pode levar à desidratação se acompanhada de vômito, o que, conseqüentemente, pode desencadear um desequilíbrio eletrolítico. Assim como também o pâncreas pode sofrer ação tóxica da peçonha, provocando dor abdominal em cólica, simulando quadro de abdome agudo (CUPO *et al.*, 2009).

O desenvolvimento dos mecanismos cardiogênicos e não cardiogênicos provocam o aparecimento do edema pulmonar agudo. Este pode se manifestar cerca de 30 minutos a três horas após a picada do escorpião. Sintomas associados ao edema pulmonar podem surgir rapidamente, sendo a presença de taquipnéia ou tosse intratável na admissão do paciente, um indicador de edema pulmonar em evolução (RAZI & MALEKANRAD, 2008). O edema pulmonar agudo é a principal causa de óbitos em acidentes escorpiônicos, sendo bastante comum e documentada (MAGALHÃES *et al.*, 2000).

1.5. *Fisiologia renal e Mecanismos de nefrotoxicidade induzida por peçonhas animais*

Por ser um órgão ricamente vascularizado, os rins são vulneráveis às lesões provocadas por toxinas, seja por alterações hemodinâmicas, que levam a isquemia do órgão, ou por lesão renal direta (SITPRIJA; STIPRIJA, 2012). Insuficiência renal aguda (IRA) é caracterizada pela súbita parada funcional dos rins total ou quase que totalmente, mas que, em um período futuro, os mesmos podem recuperar o funcionamento quase normal (GUYTON, 2011). Classificada de acordo com a localização da lesão, a IRA pode ser dividida em:

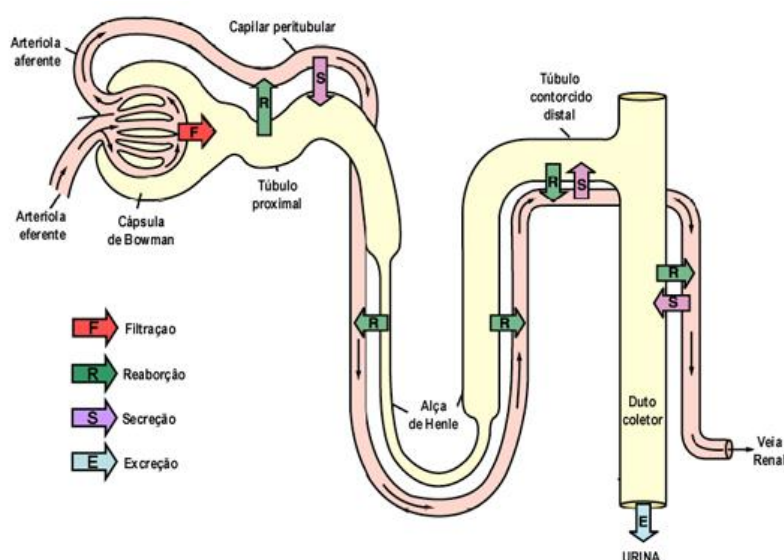
- a) Insuficiência Renal Aguda Pré-Renal: quando a lesão ocorre em um sistema anterior aos rins;
- b) Insuficiência Renal Aguda Intrarrenal: quando a lesão ocorre no próprio rim, afetando os vasos sanguíneos, glomérulos ou túbulos;
- c) Insuficiência Renal Aguda Pós-Renal: quando ocorre obstrução do sistema coletor de urina.

Os rins realizam uma grande variedade de funções para o organismo, sendo a maioria delas essencial para a vida (EATON, 2006). São órgãos indispensáveis para a homeostase corporal, exercendo importante papel na excreção de subprodutos metabólicos tóxicos através da formação de urina, na regulação do volume, na composição do líquido extracelular, na manutenção do equilíbrio ácido-básico e da pressão sanguínea (FUNCHAL, 2011). Desse modo, a insuficiência renal, ou seja, deterioração da função dos rins, resulta numa profunda desordem no equilíbrio do

organismo, sendo uma situação grave que apresenta mortalidade e morbidade elevadas (SOUZA, 2006).

Substâncias tóxicas presentes na peçonha escorpionica podem causar insuficiência renal associados com distúrbios que vão desde glomerulopatias até lesão tubular renal. Esses distúrbios são caracterizados por alteração nos transportes renais e hidroeletrólíticos, com envolvimento de diversos mediadores vasoconstritores, vasodilatadores e pró-inflamatórios, determinantes da lesão renal global (DELFINO, 1995; MONTEIRO, 1997). Em condições normais, o processo de formação de urina envolve 3 etapas: filtração glomerular, reabsorção e secreção tubular (Figura 2).

Figura 2: Esquema didático das etapas da formação de urina.



Fonte: UNESP, 2012.

O sangue penetra no glomérulo renal pela arteríola aferente e sai através da arteríola eferente. A pressão do sangue nos glomérulos produz a filtração de líquidos para o interior da cápsula de Bowman, de onde flui para túbulos. O grau de vasoconstrição das arteríolas aferentes dos glomérulos faz variar a pressão arterial renal e conseqüentemente o ritmo de filtração glomerular. O aumento da pressão arterial renal gera aumento da resistência vascular renal. Em conseqüência, haverá aumento da

filtração glomerular, resultando no aumento do fluxo urinário. A filtração ocorre no corpúsculo renal onde água e solutos do sangue deixam o sistema vascular através da barreira de filtração para o interior da cápsula de Bowman. Em situação normal, esse líquido é livre de proteínas e de células sanguíneas, esses constituintes não são filtrados devido à seletividade de permeabilidade da barreira de filtração. A presença de proteínas na urina (proteinúria) ou de hemácias (hematúria) é sinal de disfunção renal, que pode ser ocasionado após os acidentes com animais peçonhentos (VISWANATHAN, 2011; FUNCHAL, 2011). Ações nefrotóxicas têm sido relatadas, por exemplo, seguidos ao envenenamento por escorpiões das espécies *Hemiscorpius lepturus* (VALAVI; ANSARI, 2008; JALALI *et al.*, 2010) e *Androctonus australis* (GMAR-BOURAOUI *et al.*, 2000). Componentes tóxicos da peçonha podem agir de forma direta ou indireta sobre as células renais, causando mesangiólise, glomerulonefrite, vasculite, nefrite e nefrose intersticial, necrose cortical e necrose tubular, além de hipoxia vascular e infarto renal. Todas estas alterações contribuem para o desenvolvimento de complicações renais por envenenamento (SITPRIJA, 2006).

Achados hemodinâmicos renais em perfusão da peçonha em rim isolado, sugerem que a ação principal da peçonha é mediada através de canais iônicos em células do músculo liso vascular, seja por canais de Ca^{2+} L-tipo, Na^{+} ou canais de K^{+} (SITPRIJA; STIPRIJA, 2012).

Em acidentes escorpiônicos, citocinas pró-inflamatórias e mediadores, incluindo interleucinas (ILs), fator de necrose tumoral ($\text{TNF}\alpha$), óxido nítrico (NO), fator de agregação plaquetária (PAF), catecolaminas, prostaglandinas, eicosanóides cininas, leucotrienos, angiotensina (AII) e endotelinas (ET), são elevados (FUKUHARA *et al.*, 2004; CRUZ *et al.*, 2008; PETRICEVICH, 2010). No leito vascular renal a vasoconstrição supera a vasodilatação. Entre os agentes vasoconstritores temos ET1, leucotrienos e tromboxanos A2. Entretanto, AII e catecolaminas são os principais causadores de vasoconstrição (CHAIYABUTR; SITPRIJA, 1999).

Hipercalemia, acidose metabólica e hipertensão têm sido descritos no escorpionismo (ANDRADE *et al.*, 2004; OSNAYA-ROMERO *et al.*, 2008). Os dados clínicos são importantes para averiguação do transporte de eletrólitos através de canais iônicos. Abertura de canais de Na resulta em despolarização e abertura de canais de

cálcio com influxo de Ca^{2+} . A troca de Na-Ca aumenta a entrada de Ca^{2+} celular. O Aumento citosólico de Ca^{2+} desencadeia a liberação de catecolaminas, que estimulam o sistema renina-angiotensina-aldosterona, resultando em hipertensão. Hipercalemia ainda estimula a secreção de aldosterona (WU e MARX, 2010).

Ao nível clínico, a lesão renal aguda (LRA), com insuficiência renal, tem sido observada no envenenamento por toxina animal sem hipotensão e insultos associados como rabdomiólise, hemólise ou coagulação intravascular disseminada, a constatação de que sugeriria nefrotoxicidade direta (SITPRIJA, 2008). A isquemia renal, decorrente do aumento da resistência vascular renal, induz lesão renal como resposta inflamatória a toxina e toxicidade direta. Em contrapartida, a IRA é acompanhada muitas vezes pelos insultos associados, resultando em necrose tubular, a alteração patológica renal mais comum de insuficiência renal aguda induzida por toxinas animais.

IRA é frequentemente encontrada em envenenamento com grande quantidade de peçonha ou peçonha com nefrotoxicidade direta. De fato, qualquer forma grave de envenenamento pode levar a IRA seja direta ou indiretamente. Sem insultos associados, IRA é incomum e indicaria nefrotoxicidade direta (SITPRIJA; STIPRIJA, 2012).

Em revisão publicada por Stiprija (2012) sobre efeitos renais induzidos por toxinas animais, podemos observar que, em estudos de perfusão de rim isolado, peçonhas de serpentes do gênero *Bothrops* e *Crotalus durissus terrificus*, foram capazes de diminuir a resistência vascular renal (RVR), ao passo que peçonha de *Crotalus durissus cascavella*, *Polybia paulista* e *Tityus serrulatus* aumentaram a RVR. Entretanto, todas as peçonhas foram capazes de aumentar a taxa de excreção do íon sódio (Figura 3).

Figura 3: Estudo de peçonhas em perfusão de rim isolado de ratos.

Table 1
Isolated renal perfusion study of venoms in rats.

Venom	RVR	GFR	V	FENa	Reference
<i>Bothrops moojeni</i>	↓	↑	↑	↑	Barbosa et al., 2002
<i>B. jararaca</i>	↓	↓	↓	↑	Serra et al., 1999
<i>B. jararacussu</i>	↓	↑	↑	↑	Havt et al., 2001
<i>Crotalus durissus terrificus</i>	↓	↑	↑	↑	Monteiro et al., 2001
<i>Vipera russelli</i>	~	↓	↓	↑	Ratcliffe et al., 1989
<i>Crotalus durissus cascavella</i>	↑	↓	↑	↑	Martins et al., 1998
<i>Polybia paulista</i>	↑	↑	↑	↑	Vinhote et al., 2011
<i>Tityus serrulatus</i>	↑	↓	↓	↑	de Sousa Alves et al., 2005

RVR: renal vascular resistance.
GFR: glomerular filtration rate.
V: urine volume.
FENa: fractional excretion of sodium.

Nota: RVR: resistência vascular renal; GFR: ritmo de filtração glomerular; V: volume urinário; FENa: Taxa de excreção de sódio. Fonte: SITPRIJA; STIPRIJA, 2012.

Em humanos têm sido relatado que, em acidentes graves ocasionados por escorpiões, as toxinas se ligam ao rim, induzindo falência renal aguda, apresentando elevação sérica de ureia e ácido úrico, congestão peritubular, volume urinário diminuído e baixa excreção de creatinina (NUNAN et al., 2003). Na Índia, 70% dos casos graves causados por *Hemiscorpius lepturus* resultaram em proteinúria, hematuria, hemólise e diminuição da função renal (PIPELZADEH et al., 2007).

A secreção renal envolve o processo de transporte de substâncias do citosol das células epiteliais que formam as paredes do néfron para o lúmen dos túbulos. A reabsorção é o processo de retorno de parte do conteúdo filtrado para a circulação sanguínea. Por fim, a excreção resulta na eliminação de substâncias do organismo, tendo como produto final a urina (EATON, 2006; FUNCHAL, 2011).

Muito ainda precisa ser estudado na busca da compreensão dos mecanismos de ação da peçonha nos efeitos renais, cardiovasculares e pulmonares que podem levar o

indivíduo a morte. Estes efeitos se manifestam frequentemente horas após o acidente. Entretanto, poucos são os trabalhos relacionados às alterações renais, onde a peçonha circulante pode não ser detectada em pacientes acidentados, desde que eles não sejam atendidos imediatamente após o incidente (GUERON & OVSYSCHER, 1987).

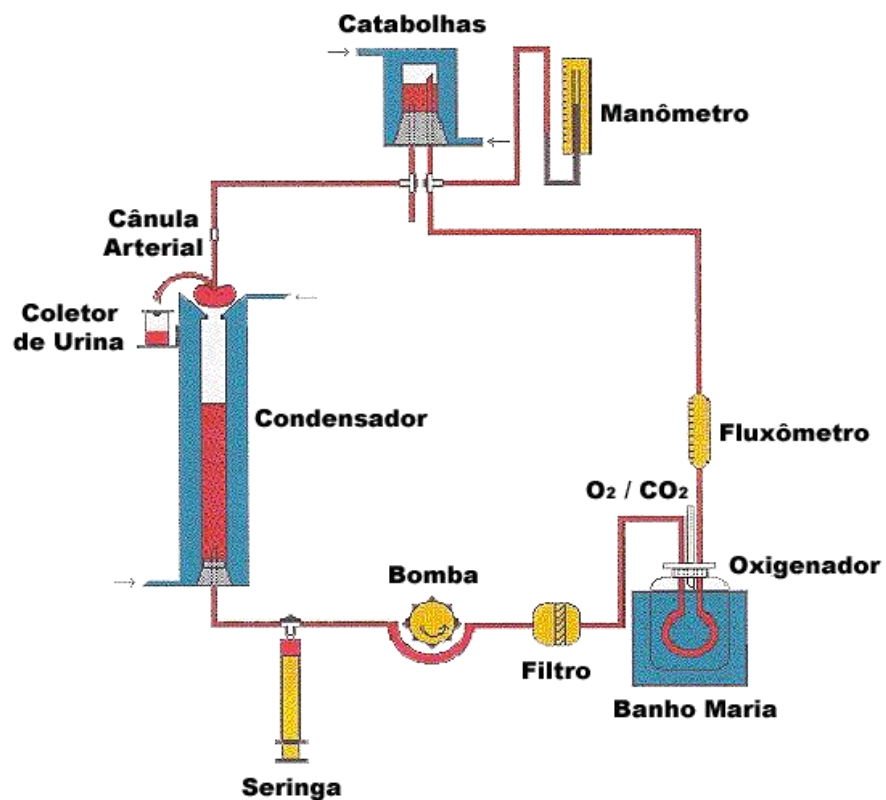
1.5.1 Sistema de Perfusão Renal

A necessidade do conhecimento dos mecanismos de controle da função renal levou inúmeros pesquisadores a desenvolverem a técnica de perfusão de rim isolado. O sistema consiste na perfusão de rim isolado com recirculação (FONTELES *et al.*, 1983) com dois subsistemas, um *in situ* e outro em circuito fechado, para perfusão *in vitro*, mantidos ambos à mesma temperatura de 37 °C. Este sistema apresenta a vantagem da manutenção constante de parâmetros funcionais renais com utilização de albumina na solução perfusora, em menor volume, mantendo constante as substâncias dialisáveis com oxigenação (95% O₂/5% CO₂) adaptada ao próprio sistema (Figuras 4 e 5).

O sistema é constituído pelos seguintes componentes:

- ✓ Banho-maria – manutenção da temperatura constante do pulmão artificial tipo silástico, entre 36 e 37 °C;
- ✓ Bomba aquecedora com termostato - manutenção da temperatura constante do pulmão artificial tipo silástico, entre 36 e 37 °C; Bomba de perfusão de Watson – bombear a solução de perfusão ao longo do sistema;
- ✓ Catabolhas – evitar a entrada de bolhas nos rins;
- ✓ Coletor de urina – frasco para coletar urina;
- ✓ Condensador – reservatório da solução perfusora;
- ✓ Filtro Millipore 5 µm – filtrar a solução perfusora;
- ✓ Fluxômetro – mensurar o fluxo de perfusão (mL/hora);
- ✓ Manômetro de mercúrio – mensurar a pressão de perfusão (mmHg);
- ✓ Pulmão artificial tipo silástico – promover trocas gasosas (95% O₂/5% CO₂);
- ✓ Seringa coletora – seringa coletora de perfusato

Figura 4: Desenho esquemático do sistema de perfusão renal.



Fonte: LAFAVET – UFC

Figura 5: Foto do sistema de perfusão de rim isolado.



Fonte: LAFAVET – UFC.

2. JUSTIFICATIVA

No Nordeste, a principal espécie envolvida em acidentes escorpiônicos é o *T. stigmurus*, com elevada prevalência no município de Vitória de Santo Antão, onde ocorreram as coletas de animais no presente trabalho. Neste município, foram registrados 1.602 casos de acidentes entre os anos de 2007 a 2012 (resultados de estudos prévios do presente grupo – dados não publicados), estando em quinto lugar entre os municípios de maior índice de casos de picadas por escorpião no estado. Devido à elevada prevalência de acidentes escorpiônicos no estado de Pernambuco (31. 117 casos nos anos de 2007 a 2012), faz-se necessária a investigação dos comprometimentos oriundos destes, cuja IRA (Insuficiência Renal Aguda) acreditamos ser uma situação de urgência, importante principalmente em crianças, idosos e pacientes portadores de doenças crônicas.

3. OBJETIVOS

3.1 Geral:

- Estudar os efeitos sobre parâmetros vasculares, de filtração e de transportes renais da peçonha total de escorpiões da espécie *Tityus stigmurus* em diferentes concentrações;

3.2 Específicos:

- Estudar os efeitos da peçonha total de escorpiões da espécie *T. stigmurus* nas concentrações de 0,3 µg/mL, 1 µg/mL e 3 µg/mL sobre os parâmetros:

- Vasculares: pressão de perfusão e resistência vascular renal;
- De filtração glomerular renal e fluxo urinário;
- De transporte tubular renal: osmolaridade urinária, transportes total e proximal dos eletrólitos sódio, potássio e cloreto.

4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALBUQUERQUE, C. M. R., PORTO, T. J., AMORIM, M. L. P., SANTANA-NETO, P. L. Scorpionism caused by *Tityus pusillus* Pocock, 1893 (Scorpiones;Buthidae) in State of Pernambuco, *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 2009; 42(2): 206-208.

ALBUQUERQUE, I. C. S., ALBUQUERQUE, H. N., ALBUQUERQUE, E. F., *et al.* Escorpionismo em Campina Grande-PB. *R. Biol. Ci. Terra*, Campina Grande, 2004;4(1)1-8.

ALVES, R. S., BARBOSA, P. S., MARTINS, R. D., *et al.* Renal effects and vascular reactivity induced by *Tityus serrulatus* venom, *Toxicon*, 2005;46(3):271-276.

ALVES, R. S., NASCIMENTO, N. R. F., BARBOSA, P. S. F., *et al.* Aspectos epidemiológicos dos acidentes escorpiônicos no estado do Ceará no período de 2003 a 2004. *R. Eletr. Pesq. Méd*, 2007;1(3)14-20.

ANDRADE, M. V., CARAMEZ, M. P., ABREU, E. M., DOLNIKOFF, M., OMAR, E. D., *et al.* Lung complacance, plasma electrolyte levels and acid base balance are affected by scorpion envenomation in anesthetized rats under mechanical ventilation. *Comp. Biochem. Physiol. C Toxicol. Pharmacol.*, 2004; 138:97–104.

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

BATISTA, C. V. F., ROMÁN-GONZÁLEZ, A. S., SALAS-CASTILLO, S. P. *et al.* Proteomic analysis of the venom from the scorpion *Tityus stigmurus*: Biochemical and physiological comparison with other *Tityus* species. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part C* 2007; 146:147–157.

BECERRIL, B., CORONA, M., CORONAS, F. I., *et al.* Toxic peptides and genes encoding toxin gamma of the Brazilian scorpions *Tityus bahiensis* and *Tityus stigmurus*, *Biochem J*, 1996;313(3):753–760.

BECERRIL, B., MARANGONI, S., POSSANI, L.D. Toxins and genes isolated from scorpions of the genus *Tityus*, *Toxicon*, 1997;35(6):821–835.

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

BORGES, A. Scorpionism in Venezuela. *Acta Biol Venez*, 1996;16:65-76.

BORGES, A., DE SOUSA, L., ESPINOZA, J., *et al.* Characterization of *Tityus* scorpion venoms using synaptosome binding assays and reactivity towards Venezuelan and Brazilian Antivenoms, *Toxicon*, 2008; 51:66–79.

BRASIL, Ministério da Saúde. *Manual de Diagnóstico e tratamento de acidentes por animais peçonhentos*. 2ª Edição. Brasília: Fundação Nacional de Saúde, 2001.

BRASIL, Ministério da Saúde – *Doenças Infecciosas e Parasitárias, Guia de Bolso*. 7ª edição, Brasília, 2008.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. *Manual de controle de escorpiões* / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância Epidemiológica. – Brasília: Ministério da Saúde, 2009; 72pp.

BRASIL. Incidência de acidentes por escorpião, 2011. Acesso em: 15 de Junho de 2012. Disponível em: <
http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/tabela10_inci_casos_escorpiao_01_04_2011.pdf>

BRASIL, Portal da Saúde, 2012. Acesso em 10/11/12. Disponível em: <http://portal.saude.gov.br/portal/saude/profissional/visualizar_texto.cfm?idtxt=31510>

BRASIL. Ministério da Saúde: Casos de Acidentes por Escorpiões. Acesso em: 10/11/12. Disponível em: <http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/tabela02_casos_escorpiao2000_2011_01_04_2011.pdf>

BRAZIL, V. Contribuição ao estudo do envenenamento pela picada do escorpião e seu tratamento. Revista Médica de São Paulo, 1907;X, 19,385-390 *apud* BRAZIL, T. K., LIRA-DA-SILVA, R. M., PORTO, T. J., et al. Escorpiões de Importância Médica do Estado da Bahia, Brasil, *Gazeta Médica da Bahia*, 2009;79(1):38-42.

BRAZIL, T. K., PORTO, T. J. Os escorpiões - Salvador: *EDUFBA*, 2010. 84p.

CARDOSO, J. L.C. Animais peçonhentos no Brasil: Biologia, Clínica e terapêutica dos acidentes. São Paulo: *Sarvier*, 2009.

CESARETLI, Y. & OZKAN, O. Scorpion Stings In Turkey: Epidemiological And Clinical Aspects Between The Years 1995 and 2004, *Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo*, 2010;52(4):215-220.

CESTE`LE, S., CATTERALL, W. A. Molecular mechanisms of neurotoxin action on voltage-gated sodium channels. *Biochimie*, 2000;82:883–892.

CHAGOT, B., PIMENTEL, C., DAI, L., *et al.* An unusual fold for potassium channel blockers: NMR structure of three toxins from the scorpion *Opisthacanthus madagascariensis*, *Biochemical Journal*, 2005;388(1):263–271.

CHAIYABUTR, N., SITPRIJA, V. Pathophysiological effects of Russell's viper venom on renal function. *J. Nat. Toxins*, 1999; 8:351–358.

CHIPPAUX JP, GOYFFON M. Epidemiology of scorpionism: a global appraisal. *Acta Trop.* 2010/08;107:71-79.

COLOGNA, C. T., MARCUSSI, S., GIGLIO, J. R., SOARES, A. M., ARANTES, E. C. *Tityus serrulatus* scorpion venom and toxins: an overview, *Protein Pept Lett*, 2009;16:920–932.

CORONA, M., GURROLA, G. B., MERINO, E., *et al.* A large number of novel Ergtoxin-like genes and ERGK β -channels blocking peptides from scorpions of the genus *Centruroides*, *FEBS Lett*, 2002;532:121–126.

COZIIN, M.A.C. *Tityus obscurus*, 2009. Acesso em: 16 de Agosto de 2012. Disponível em: < http://www.ntnu.no/ub/scorpion-files/t_obscurus_biography.pdf>

CRUZ, A. H., GARCIA-JIMENEZ, S., MENDONCA, R. Z., PETRICEVICH, V. L. Proand anti-inflammatory cytokines release in mice injected with *Crotalus durissus terrificus* venom. *Mediators Inflamm.*, 2008; 874962.

CUPO, P., AZEVEDO-MARQUES, M. M., HERING, S. E. Escorpionismo. In: CARDOSO, J. L. C. *et al.* Animais peçonhentos no Brasil: biologia, clínica e terapêutica dos acidentes. 2. ed. São Paulo: *Sarvier: Fapesp*, 2009;214-224.

CUPO, P., JURCA, M., AZEVEDO-MARQUES, M. M., *et al.* Severe scorpion envenomation in Brazil: clinical, laboratory and anatomopathological aspects, *Rev Inst Med Trop S Paulo*, 1994;36:67–76.

DE ROODT, A. R., GARCIA, S. I., SALOMON, O. D., *et al.* Epidemiological and clinical aspects of scorpionism by *Tityus trivittatus* in Argentina. *Toxicon*, 2003;41:9717.

DELFINO, V. D. A., MOCELIN, A. J. Efeitos renais adversos dos anti-inflamatórios não hormonais uma abordagem prática. *J. Bras. Nefrol.*, 1995; 17(4):199-205.

DHAWAN, R., VARSHNEY, A., MATHEW, M. K., LALA, A. K. BTK-2, a new inhibitor of the Kv1.1 potassium channel purified from Indian scorpion *Buthus tumulus*, *FEBS Lett*, 2003;539:7–13.

DITTRICH, K., POWER, A. P., SMITH, N. A. Scorpion sting syndrome, a ten year experience. *Ann. Saudi. Med.*, 1995;15:148-55.

EATON, D. C. Fisiologia Renal de Vander. 6ª ed: *Artmed-Bookman*, 2006; 254p.

EICKSTEDT, V. R. D. Escorpionismo por *Tityus stigmurus* no Nordeste do Brasil (Scorpiones; Buthidae). *Memórias do Instituto Butantan*, 1983-1984; 47/48:133–137 *apud* LIRA-DA-SILVA, R. M, A. M. DE AMORIM, & T. KOBLER. Envenenamento por *Tityus stigmurus* (Scorpiones; Buthidae) no Estado da Bahia, Brasil. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 2000;33(3):239–245.

FET, V., SISSOM, W. D., LOWE, G., BRAUNWALDER, M. E. Catalog of the Scorpions of the World (1758-1998). New York, *New York Entomological Society*. 2000, 690p.

FIORAVANTI, C. Os venenos da floresta.. Edição Impressa 167 - Janeiro 2010, *Pesquisa Online – FAPESP* – Acesso em: 20 de Julho de 2012. Disponível em: <<http://revistapesquisa2.fapesp.br/?art=4025&bd=1&pg=1>>

FRANCKE, O. F., A critical review of reports of parthenogenesis in Scorpions (Arachnida), *Revista Ibérica de Aracnología*, 2007;16:93 – 104.

FREITAS, G. C. C., & VASCONCELOS, S. D. Escorpiofauna da Ilha de Fernando de Noronha, Brasil: Primeiro Registro de *Tityus stigmurus* (Thorell, 1877) (Arachnida, Buthidae), *Biota Neotropica*, 2008;8(2):235-237.

FUKUHARA, Y. D., DELLALIBERA-JOVILIANO, R., CUNHA, F. Q., REIS, M. L. The kinin system in the envenomation caused by the *Tityus serrulatus* scorpion sting. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 2004; 96:390–395.

FUNCHAL, C., MASCARENHAS, M., GUEDES, R. Correlação Clínica e Técnicas de Uroanálise. Teoria e prática. 2ª ed: *Sulina*, 2011; 126p.

GMAR-BOURAOUI, S., ALOUI, S., BEN DHIA, N., *et al.*,. Scorpion sting and acute interstitial nephropathy: Apropos of 1 case. *Med Trop (Mars)*, 2000; 60:305–306.

GORDON, D., SAVARIN, P., GUREVITZ, M., ZINN-JUSTIN, S. Functional anatomy of scorpion toxins affecting sodium channels. *J. Toxicol. Toxin. Rev.*, New York, 1998; 17:131-159.

GUERON, M. & OVSYSHCHER, I. What is the treatment for the cardiovascular manifestations of scorpion envenomation? *Toxicon*, 1987;25:12-24.

GUERRERO-VARGAS, J. A., MOURA, C. B. F., QUINTERO-HERNANDEZ, V. *et al.* Identification and Phylogenetic Analysis of *Tityus pachyurus* and *Tityus obscurus* Novel Putative Na⁺-Channel Scorpion Toxins, *PLoS ONE*, 2012;7:1-13.

GWEE, M. C. E., NIRTHANAN, S., KHOO, H-E, *et al.* Autonomic effects of some scorpion venoms and toxins, *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*, 2002;29(9):795–801.

GUYTON, A. C., HALL, J. E. Tratado de Fisiología Médica. 11^a ed: *Elsevier*, 2006; 1264p.

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

JALALI, A., PIPELZADEH, M. H., SAYEDIAN, R., ROWAN, E. G. A review of epidemiological, clinical and *in vitro* physiological studies of envenomation by the scorpion *Hemiscorpius lepturus* (Hemiscorpiidae) in Iran. *Toxicon*, 2010;55(2-3):173-9.

KEEGAN, H.L. 1998. Scorpions of medical importance. Fitzgerald Publishing.

KHATTABIA, A., SOULAYMANI-BENCHEIKHA, R., ACHOURB, S., LOUIS-RACHID S, *et al.* Classification of clinical consequences of scorpion stings: consensus

development, *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 2011;105:364–369.

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*, 2000;33(3):239-245.

LOURENÇO, W. R. Parthenogenesis in scorpions: some history – new data. *Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases*, 2008;14(1)19-44.

LOURENÇO, W. R. Scorpion diversity in Tropical South America: Implications for conservation programs. In: Brownell P, Polis G, eds. *Scorpion Biology and Research*. Oxford: Oxford Univ. Press. 2001;406–416.

LOURENÇO, W. R. *Scorpions of Brazil*. Paris: Les Éditions de l'If, 2002, 308p.

LOURENÇO, W. R., & LEGUIN, E. A. The true identity of Scorpio (Atreus) obscurus Gervais, 1843 (Scorpiones, Buthidae). *Euscorpius* 2008;75:1–9.

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

LUCAS, S. M. O laboratório de artrópodes do Instituto Butantan e os aracnídeos peçonhentos. *História, Ciências – Manguinhos*, 2003;10(3):1025-1035.

MAESTRI-NETO, A., GUEDES, A. B., CARMO, S. F., *et al.* Aspectos do Escorpionismo no Estado do Pará-Brasil, *Revista Paraense de Medicina*, 2008;22(1):49-55.

MAGALHÃES, M. M., GARBACIO, V. L., ALMEIDA, M. B., *et al.* Acid-base balance following *Tityus serrulatus* envenoming in anaesthetized rats, *Toxicon*, 2000;38:855-864.

MARCUSSI, S. *et al.* Escorpiões: biologia, envenenamento e mecanismos de ação de suas toxinas. 1. edição. Ribeirão Preto, SP – FUNPEC-Editora, 2011.

MITRE, M. Aranhas e escorpiões de cativeiro. Ciência Hoje. Minas Gerais, 2001.

MONTEIRO, J. L., CAMPOS, S. B., SEGURO, A. C. Efeitos renais do trimetoprima e sulfametoxazol. *J. Bras. Nefrol.*, 1997; 19(3):276-279.

MULLER, 1993; G. J. Scorpionism in South Africa. A report of 42 serious scorpion envenomations, *South African Medical Journal*, 1993; 83(6):405–411.

NISHIKAWA, A. K., CARICATI, C. P. *et al.* Antigenic cross-reactivity among the venoms from several species of Brazilian scorpions, *Toxicon*, 1994;32(8): 989-998. northeast Brasil.

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

OLIVEIRA, F. N. *et al.*, Toxicidade da peçonha de *Tityus serrulatus* procedente do distrito federal por meio da avaliação da DL₅₀, efeitos da peçonha e edema pulmonar induzido – Dissertação (Mestrado) Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde – Universidade de Brasília. 2011.

OUTEDA-JORGE, S. *et al.* Corte e aspectos da biologia reprodutiva do escorpião brasileiro *Tityus bahiensis* (Scorpiones: Buthidae) – Dissertação (Mestrado) Instituto de biociência da Universidade de São Paulo. Departamento de zoologia. 2010.

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. *R. Soc. bras. Med. trop.*, 2003;36(3)349-353.

PENEDO, G. L., & SCHLINDWEIN, M. N. A Explosão Demográfica da Espécie *Tityus Serrulatus*, (Escorpião Amarelo) na Área Urbana de Araraquara e a Sensível Diminuição da Espécie *Tityus Bahiensis*, (Escorpião Marrom), *Revista Uniara*, 2004;15:167-176.

PETRICEVICH, V. L. Scorpion Venom and the Inflammatory Response. *Mediators of Inflammation*, Volume 2010, 16pp.

PIPELZADEH, M. H., JALALI, A., TARAZ, M., POURABBAS, R., ZAREMIRAKABADI, A. An epidemiological and clinical study on scorpionism by the Iranian scorpion *Hemiscorpius lepturus*. *Toxicon.*, 2007; 50(7):984-92.

POLIS, G. A. The Biology of Scorpions. California: *Stanford University Press*, 1990; 587p.

PORTO, T. J., BRAZIL, T. K., LIRA-DA-SILVA, R. M. Scorpions, state of Bahia, northeastern Brazil. *Check List*, 2010;6(2)292-297.

POSSANI, L. D. Structure of scorpion toxins. In *Handbook of Natural Toxins* (Tu, A.T., ed.), Marcel Dekker, Inc., New York, 1984;2:513–550.

POSSANI, L. D., BECERRIL B., DELEPIERRE, M., TYTGAT, J. Scorpion toxin specific for Na-channels, *Eur. J. Biochem.* 1999;264:287-300.

POSSANI, L. D., MERINO, E., CORONA, M., BOLIVAR, F., BECERRIL, B. Peptides and genes coding for scorpion toxins that affection-channels, *Biochimie*, 2000;82:861–868.

RAZI, E. & MALEKANRAD, E. Asymmetric pulmonary edema after scorpion sting: A case report. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 2008;50(6):347-350.

RODRIGUEZ DE LA VEGA, R. C., & POSSANI, L. D. Overview of scorpion toxins specific for Na⁺ channels and related peptides: biodiversity, structure-function relationships and evolution, *Toxicon*, 2005;46:831-844.

ROSS, L. K. Confirmation of parthenogenesis in the medically significant, synanthropic scorpion *Tityus stigmurus* (Thorell, 1876) (Scorpiones: Buthidae), *Revista Ibérica de Aracnología*, 2010;18:115-121.

SILVA, T. F., CASAIS-E-SILVA, L. L., LIRA-DA-SILVA, R. M. Avaliação da DL₅₀ e Edema Pulmonar Induzido pelo Veneno de *Tityus Serrulatus* (Scorpiones; Buthidae) Procedente da Bahia, Brasil, *Biota Neotropica*, 2005;5(1):1-5

SITPRIJA, V. Animal toxins and the kidney. *Nat. Clin. Pract. Nephrol.*, 2008; 4:616–627.

SITPRIJA V., SITPRIJA, S. Renal effects and injury induced by animal toxins. *Toxicon*, 2012; 60:943–953.

SOARES, M. R., AZEVEDO, C. S., DE MARIA, M. Scorpionism in Belo Horizonte, MG: a retrospective study, *Rev Soc Bras Med Trop*, 2002;35:359–363.

SOUZA, C. A. R., CANDIDO, D. M., LUCAS, S. M., & BRESCOVIT, A. D. On the *Tityus stigmurus* complex (Scorpiones, Buthidae). *Zootaxa*, 2009;1987:1-38.

SOUZA, M. H. L. & ELIAS, D.O. Fundamentos da Circulação Extracorpórea. Segunda Edição, Rio de Janeiro, 2006.

SRINIVASAN, K. N., SIVARAJA, V., HUYS, I., *et al.* kappa-Hefutoxin1, a novel toxin from the scorpion *Heterometrus fulvipes* with unique structure and function. Importance of the functional diad in potassium channel selectivity. *J. Biol. Chem*, 2002;277:30040–30047.

STOCKMANN, R., YTHIER, E.. Scorpions of the World. Paris: NAP editions.2010.

TEIXEIRA, A. L., FOUNTOURAB, J. R. B. F., FONTOURAB, L., *et al.* Evidence for a direct action of *Tityus serrulatus* scorpion venom on the cardiac muscle, *Toxicon*, 2001;39:703-709.

TORRES, J. B., MARQUES, M. G. B., MARTINI, R. K., BORGES, C. V. A. Acidente por *Tityus serrulatus* e suas implicações epidemiológicas no Rio Grande do Sul, *Rev Saúde Pública*, 2002;36(5):631-3.

VALAVI, E., ANSARI, M. J. Hemolytic uremic syndrome following *Hemiscorpius lepturus* (scorpion) sting. *Indian J Nephrol*. 2008; 18: 166–168.

VASCONCELOS, F., LANCHOTE, V. L., BENDHACK, L. M., *et al.* Effects of voltage-gated Na⁺ channel toxins from *Tityus serrulatus* venom on rat arterial blood pressure and plasma catecholamines. *Comp. Biochem. Physiol. C Pharmacol. Toxicol*, 2005;141(1): 85-92.

VASCONCELOS F. Efeitos de α e β -neurotoxinas da peçonha do escorpião *Tityus serrulatus* sobre a liberação de catecolaminas, pressão arterial, captação de neurotransmissores e concentração de cálcio em células de músculo liso de aorta de ratos. Tese (doutorado) PPG em Toxicologia, USP, 2006.

WATT, D.D., SIMARD, J.M. Neurotoxic proteins in scorpion venom, *J. toxicol. Toxin. Ver.*, New York, 1984;3: 181-221.

WU, R. S., MARX, S. O. The BK potassium channel in the vascular smooth muscle and kidney: a- and b-subunits. *Kidney Int*. 2010; 78:963–974.

O TRABALHO SERÁ APRESENTADO NA FORMA DE ARTIGO
CIENTÍFICO A SER SUBMETIDO PARA PUBLICAÇÃO NA REVISTA DO
INSTITUTO DE MEDICINA TROPICAL DE SÃO PAULO.
(Qualis: B1; Área: Biodiversidade).

EFEITOS RENAIIS DA PEÇONHA DE *Tityus stigmurus* (THORELL, 1876)

(Scorpiones: Buthidae) EM PERFUSÃO DE RINS ISOLADO DE RATOS

Nathalia Alves DA SILVA (1), Aline Diogo MARINHO (2), Roberta Jeane Bezerra JORGE (2), Antonio Gomes da SILVA NETO (2), Rafael Matos XIMENES (3), Alice Maria Costa MARTINS (4), Ticiane Praciano PEREIRA (4), Dalgimar Beserra DE MENEZES (5), Helena Serra Azul MONTEIRO (2), René Duarte MARTINS (6), Cleide Maria Ribeiro DE ALBUQUERQUE (1).

(1) Departamento de Zoologia, Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, PE, Brazil.

(2) Departamento de Fisiologia e Farmacologia, Faculdade de Medicina, Fortaleza, CE, Brazil.

(3) Departamento de Antibióticos, Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, PE, Brazil.

(4) Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas, Faculdade de Farmácia, Odontologia e Enfermagem, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, CE, Brazil.

(5) Departamento de Patologia e Medicina Legal, Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, CE, Brazil.

(6) Centro Acadêmico de Vitória, Universidade Federal de Pernambuco, Vitória de Santo Antão, PE, Brazil.

Correspondência para: René Duarte Martins, Centro Acadêmico de Vitória, Universidade Federal de Pernambuco, Rua Alto do Reservatório s/n, 55608-680, Vitória de Santo Antão, PE, Brasil. E-mail: rene.duarte@ufpe.br

Abstract

The scorpions of medical interest in Brazil belong to the *Tityus* genus. Among them, *Tityus stigmurus* is the main responsible for scorpion stings in Northeast region. After stings, the scorpion venom has a fast distribution to the organs, reaching the kidneys quickly. However, there are few works concerning the renal pathophysiology of scorpion poisoning. In this work, we evaluated the effects of *T. stigmurus* venom (TsV) on renal parameters in isolated rat kidneys. Wistar rats (n=6), weighting 250-300 g, were perfused with Krebs-Henseleit solution containing 6g/100 mL of bovine serum albumin. TsV at 0.3 and 1.0 µg/mL was tested and the effects on the perfusion pressure (PP), renal vascular resistance (RVR), urinary flow (UF), glomerula filtration rate (GFR) and electrolyte excretion were analyzed. The effects were observed only at the concentration of 1.0 µg/mL of TsV, which increased PP ($_{\text{control}}\text{PP}_{40} = 92.7 \pm 1.95$; $_{\text{TsV}}\text{PP}_{40} = 182.0 \pm 4.70^*$ mmHg, $^*p < 0.05$), RVR ($_{\text{control}}\text{RVR}_{40} = 3.28 \pm 0.23$ mmHg; $_{\text{Tst}}\text{RVR}_{40} = 6.76 \pm 0.45^*$ mmHg, $^*p < 0.05$), UF ($_{\text{control}}\text{UF}_{50} = 0.16 \pm 0.04$; $_{\text{Tst}}\text{UF}_{50} = 0.60 \pm 0.10^*$ mL/g/min, $^*p < 0.05$), GFR and electrolyte excretion, with histological changes that indicate renal tubular injury. Thus, *T. stigmurus* induces a transient increasing in PP with tubular injury, both of which lead to an augmented electrolyte excretion.

Keywords: *Tityus stigmurus*, venom, kidney, MDCK

Resumo

Os escorpiões de interesse médico no Brasil pertencem ao gênero *Tityus*. Dentre eles, *Tityus stigmurus* é a principal espécie associada a acidentes escorpiônicos na região Nordeste. A peçonha escorpiônica se distribui rapidamente para os órgãos, atingindo rapidamente os rins, entretanto pouco se conhece sobre suas ações na fisiopatologia renal. Neste estudo avaliou-se o efeito da peçonha de *Tityus stigmurus* (TsV) sobre parâmetros renais em rins isolados de ratos. Ratos Wistar (n=6), com pesos entre 250-300g, foram perfundidos com solução de Krebs-Henseleit contendo 6g/100mL de albumina sérica bovina. Concentrações de 0,3 e 1,0 µg/mL da peçonha de *T. stigmurus* foram testadas e os efeitos sobre pressão de perfusão (PP), resistência vascular renal (RVR), fluxo urinário (FU), ritmo de filtração glomerular (RFG) e excreção de eletrólitos foram analisados. Foram observados efeitos apenas na concentração de 1,0 µg/mL, que elevou pressão de perfusão ($_{\text{control}}\text{PP}_{40} = 92,7 \pm 1,95$; $_{\text{TsV}}\text{PP}_{40} = 182,0 \pm 4,70^*$ mmHg, $^*p < 0,05$); RVR ($_{\text{control}}\text{RVR}_{40} = 3,28 \pm 0,23$ mmHg; $_{\text{Tst}}\text{RVR}_{40} = 6,76 \pm 0,45^*$ mmHg, $^*p < 0,05$); FU ($_{\text{control}}\text{FU}_{50} = 0,16 \pm 0,04$; $_{\text{Tst}}\text{FU}_{50} = 0,60 \pm 0,10^*$ mL/g/min, $^*p < 0,05$), RFG e excreção dos eletrólitos sódio, potássio e cloreto, com indicativos histológicos de lesão tubular renal. *T. stigmurus* promove aumento transitório da pressão de perfusão renal, com lesão tubular que eleva excreção de eletrólitos.

Palavras-chave: *Tityus stigmurus*, peçonha, rim, MDCK

Introdução

Acidentes escorpiônicos são a segunda causa mais frequente de envenenamento por animais peçonhentos em humanos no mundo¹. No Brasil, é considerado um grave problema de saúde pública devido ao aumento no número de vítimas notificadas, que passou de 12,704 casos em 2000 para 50.126 casos em 2012². Os sintomas clínicos do envenenamento por escorpiões são decorrentes da presença de peptídeos neurotóxicos na peçonha^{3,4,5}, que causam distúrbios no sistema nervoso, muscular e cardiovascular^{6,7,8}.

Os escorpiões do gênero *Tityus* são responsáveis pela maioria dos envenenamentos graves no Brasil, principalmente *T. serrulatus*, *T. bahiensis* and *T. stigmurus*⁹. Este último é o principal responsável pelo envenenamento na região Nordeste, onde esta espécie é encontrada¹⁰. As peçonhas escorpiônicas são compostas de muco, mucopolissacarídeos, oligopeptídeos, nucleotídeos, inibidores da protease, liberadores de histamina, aminoácidos, enzimas (hialuronidase) e lipídeos. Várias proteínas de baixo peso molecular (neurotoxinas) e aminas bioativas (serotonina e histamina) também estão presentes na peçonha de escorpiões, incluindo os do gênero *Tityus* e atuam em canais iônicos e membranas biológicas^{11, 12, 13, 14}.

Estudos experimentais em ratos mostraram hemorragia e congestão no tecido renal, causando insuficiência renal aguda¹⁵, principalmente em animais jovens, após administração da peçonha de *T. serrulatus*¹⁶. Além disso, Alves *et al.*, (2005)¹⁷ demonstraram que a peçonha de *T. serrulatus* alterou parâmetros da função renal refletida no aumento da pressão de perfusão (PP) e resistência vascular renal (RVR) em perfusão de rins isolados de rato.

No entanto, apesar da nefrotoxicidade caracterizar-se como um dos efeitos mais importantes e letais em peçonhas animais^{18,19} poucos estudos têm observado a fisiopatologia renal causada pelo escorpionismo. Insuficiência renal aguda em pessoas picadas por *Hemiscorpius lepturus* tem sido reportada no Paquistão²⁰ e Irã²¹. No Brasil, alterações dos níveis plasmáticos de ureia e creatinina, também foram registradas após acidentes com *Tityus serrulatus* em humanos, indicando possíveis danos das toxinas da peçonha sobre o rim¹⁶.

Os aspectos clínicos da picada de *T. stigmurus* podem variar de leve (com edema e dor local como os principais sintomas clínicos), moderada (com náuseas, vômitos, sudorese, salivação, agitação, taquicardia e taquipnéia) a casos graves (com vômitos profusos, sudorese e salivação, prostração, convulsões, edema pulmonar e choque)⁹. No entanto, há poucas informações sobre os efeitos renais desta peçonha. Assim, este trabalho teve como objetivo avaliar os efeitos da peçonha de *T. stigmurus* na função renal de ratos, por meio de parâmetros como pressão de perfusão (PP), resistência vascular renal (RVR), fluxo urinário (FU), ritmo de filtração glomerular (RFG) e a excreção de eletrólito de sódio, potássio e cloreto. Também foi avaliado o efeito direto da peçonha em células epiteliais dos túbulos renais em cultura.

Materiais e Métodos

A peçonha de *Tityus stigmurus* (TsV) foi obtida a partir de 98 escorpiões coletados na cidade de Vitória de Santo Antão (08 ° 07 '05" S, 35 ° 17' 29" W), distante 47,2 quilômetros de Recife / PE. Antes da extração, os escorpiões foram mantidos em jejum durante uma semana. A extração da peçonha foi realizada utilizando um estímulo elétrico de 30 V no tálson para liberar a peçonha, que foi coletada através de um tubo capilar. A peçonha foi então liofilizada e mantida à temperatura de -20 ° C até à sua utilização.

Ratos Wistar machos (n = 6), pesando entre 250 e 300 g, foram utilizados nos experimentos de perfusão de rim isolado. Os animais foram mantidos em jejum 12 horas antes da experimentação com livre acesso à água. Os protocolos experimentais utilizados neste estudo foram previamente aprovados pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da Universidade Federal de Pernambuco, sob o n.º. 539/13. Para os experimentos de perfusão de rim isolado, os ratos foram anestesiados com pentobarbital sódico (50 mg/kg, ip) e após cuidadosa dissecação do rim direito, a artéria renal direita foi canulada, através da artéria mesentérica, sem interromper o fluxo de sangue como descrito por Bowman²².

A solução de perfusão consistiu de uma solução de Krebs-Henseleit modificada (MKHS) com a seguinte composição (em mmol/L): 114,00 NaCl, 4,96 KCl, 1,24 de KH₂PO₄, 0,5 de MgSO₄·7H₂O, 2,10 de CaCl₂ e 24.99 NaHCO₃. Albumina de soro bovino (BSA 6 g%; fração V), ureia (0,075 g), inulina (0,075 g) e de glicose (0,15 g) foram adicionados à solução, resultando num volume de solução de perfusão final de 100 mL. O pH foi ajustado para 7,4. Em cada experimento, 100 mL de MKHS foram recirculados durante 120 min. A pressão de perfusão (PP) foi medida na ponta da cânula

de aço inoxidável na artéria renal. As amostras de urina e perfusato foram recolhidas em intervalos de 10 min para análise dos níveis de sódio, potássio e cloreto através de eletrodos íon-seletivos (Rapid Chem 744, Bayer diagnóstico, Reino Unido); inulina, tal como descrito por Walser *et al.*,²³ e modificado por Fonteles *et al.*,²⁴; e osmolaridade, que foi medida num osmômetro de pressão a vapor (Wescor 5100C, EUA). A peçonha de *T. stigmurus* (TsV) (0,3 e 1,0 µg/mL) foi adicionada ao sistema 30 min após o início de cada perfusão.

A pressão de perfusão (PP), resistência vascular renal (RVR), fluxo urinário (UF), ritmo de filtração glomerular (RFG), a excreção de sódio (ENa^+), potássio (EK^+) e cloreto de (ECI^-) foram determinadas²⁵. Os resultados foram comparados com o grupo controlo interno (os primeiros 30 minutos de perfusão) e o grupo controlo externo (um grupo perfundido apenas com a solução de perfusão durante 120 min.) Após cada experimento, os rins (perfundido e não-perfundido) foram fixados em formol tamponado a 10%, processados e emblocados com parafina e então seccionados em cortes de 5 µm. As lâminas foram coradas com hemotoxilina e eosina (HE) e examinadas em um microscópio de luz.

Células epiteliais do túbulo distal de cães (Madin-Darby Canine Kidney, MDCK) foram cultivadas em meio RPMI 1640 suplementado com 10% de soro fetal bovino, 1% de penicilina (10 000 IU/mL) e estreptomicina (10 mg/mL). Para cada uma das células experimentais foram removidos e incubados com tripsina-EDTA (0,25/0,02% v/v) a 37 °C em cerca de 5 min. Após isto, as células foram contadas numa câmara de Neubauer e suspensas em meio de cultura (1×10^5 células) e 24 horas mais tarde, utilizado para os experimentos.

A viabilidade celular foi avaliada pelo método do MTT (brometo de 4,5-dimetilazol-2-il-2,5-difenil tetrazólio) como descrito por Mosmann²⁶. As células MDCK foram cultivadas em placas de 96 poços a uma densidade de 10^5 células e tratadas com diferentes concentrações de TsV (3,12, 6,25, 12,5, 25, 50, 100, 200 $\mu\text{g/mL}$). Após 24 h de tratamento, as células foram incubadas com 0,5 mg/mL de MTT durante 4 h. Os cristais de formazan, que resultaram da redução de MTT, foram dissolvidos por adição de SDS (10%) a cada poço seguido por incubação durante 17 h. A absorbância foi lida a 570 nm num leitor de microplacas, e a viabilidade celular foi calculada comparando as absorbâncias resultantes com a absorbância média dos poços de controle (sem peçonha, considerada como sendo 100% de viabilidade).

Os dados foram expressos como média $\pm$ EPM e analisados por ANOVA seguido pelo teste de Bonferroni utilizando GraphPad Prism® 5.0 com nível de significância $p < 0,05$.

Resultados

TsV alterou todos os parâmetros da função renal avaliados somente na concentração de 1,0 µg/mL, aumentando pressão de perfusão (Fig. 1a), resistência vascular renal (Fig. 1b) e fluxo urinário (Fig. 1c), após 10 min de adição de TsV ao sistema. O ritmo de filtração glomerular aumentou após 20 min da adição de TsV (Fig. 1d). A excreção de sódio, potássio e cloreto aumentou significativamente com a mesma concentração (1,0 µg/mL), como mostrado na Fig. 2, com valores elevados da excreção de sódio, potássio e cloreto até o fim dos experimentos. A concentração mais baixa de TsV (0,3 µg/mL) não alterou nenhum dos parâmetros avaliados, quando comparado com o grupo de controle externo.

A análise histológica dos rins é mostrada na Tabela 1. Não foram observadas alterações nos glomérulos e túbulos em rins controle, perfundidos e não perfundidos, enquanto que em ambos os grupos de TsV, foram observados depósitos de proteínas intratubulares e degeneração hidrópica nas células dos túbulos contorcidos proximal e distal.

O efeito de TsV em cultura de células MDCK mostrou uma ligeira diminuição na viabilidade celular nas concentrações de 6,25 e 12,5 µg/mL, mas os resultados não revelaram significância estatística (Fig. 3).

Discussão

Diversas peçonhas animais são capazes de induzir lesões renais, sobretudo insuficiência renal aguda, como as peçonhas extraídas de serpentes^{27,28,29}, aranhas³⁰, abelhas³¹, vespas³², peixes³³, anêmonas do mar³⁴ e escorpiões^{17,35,36}.

Peçonhas animais são mistura complexas, incluindo proteínas, peptídeos, enzimas e outras substâncias químicas³⁷. Dentre os componentes da peçonha escorpiônica encontram-se enzimas, nucleotídeos, lipídeos, aminas biogênicas e peptídeos. Neste último grupo, estão presentes importantes componentes da peçonha de escorpião, que foram classificados em várias famílias e subfamílias de acordo com suas estruturas e efeitos biológicos³⁸.

A elevada vascularização, a característica como órgãos excretores e a velocidade em que as toxinas de escorpiões atingem os rins (em cerca de 15 min após a picada) são os principais fatores para a vulnerabilidade destes órgãos e para o desenvolvimento de nefrotoxicidade após picadas de escorpião^{37,39}.

A peçonha de *T. stigmurus* aumentou a RVR e a PP, juntamente com o fluxo urinário, o que se assemelha a uma diurese pressórica, fenômeno que podem estar relacionados à presença de aminas biogênicas na peçonha causando vasoconstrição intrarrenal⁴⁰. Alves *et al.*, (2005)¹⁷ demonstraram que a peçonha de *T. serrulatus* também aumentou PP e RVR, provavelmente devido à ação vasoativa direta da peçonha, como comprovado por experimentos em leito vascular mesentérico, cujos resultados sugerem que efeito da peçonha em receptores $\alpha 1$ -adrenérgicos. Estes

receptores são encontrados em abundância nos rins, nas arteríolas aferentes e eferentes⁴¹.

No entanto, apesar do retorno rápido da PP aos valores basais, a elevação persistente dos outros parâmetros pode ser explicada por (1) lesão direta da membrana basal dos capilares glomerulares, devido à elevada PP¹⁷ (2) a presença de peptídeos formadores de poros na peçonha, tal como é conhecido para outras espécies de escorpião⁴². Tomados em conjunto, estes fatores podem contribuir para a elevação do RFG e FU, bem como os depósitos de proteínas intratubulares nos túbulos contorcidos proximais e distais, como observado na análise histológica.

A degeneração hidrópica em células epiteliais dos túbulos contorcidos proximal e distal sugere lesão tubular direta. Sitprijja³⁷ atribui necrose tubular como a principal alteração patológica devido ao envenenamento por escorpião. Este tipo de lesão reforça o aumento do fluxo urinário e intensifica a diurese, como também contribui para a diminuição da reabsorção eletrolítica, com elevação da excreção de sódio, potássio e cloreto.

O transporte de eletrólitos nos túbulos renais, especialmente Na^+ e K^+ , é normalmente afetado por toxinas animais. Reabsorção tubular de Na^+ é inibida pela maioria das toxinas animais, como mostrado em estudos de perfusão de rins isolados, resultando num aumento na excreção de Na^+ . O local exato no túbulo renal onde ocorre a inibição ainda não foi elucidado⁴². Toxinas escorpiônicas como charibdotoxina de *Leiurus quinquestriatus hebraeus* e iberiotoxina de *Hottentota tumulus* diminuem o transporte de K^+ para o lúmen tubular⁴³. No entanto, o bloqueio dos canais de potássio ativados por cálcio (Maxi-K) nos ductos coletores, por toxinas escorpiônicas, podem

causar hipercalemia clínica, através da diminuição da secreção de K^+ no túbulo coletor cortical^{42,44}.

Além dos efeitos nos canais de K^+ , toxinas escorpiônicas também afetam os canais de Na^+ e Cl^- . Também é sabido que toxinas de *T. serrulatus* promovem abertura de canais de Ca^{2+} ⁴², o que poderia contribuir para o aumento da RVR, PP e poderia intensificar a lesão tubular devido às consequências deletérias da maior concentração de Ca^{2+} citosólico⁴⁵.

Em conclusão, a peçonha de *T. stigmurus* induz aumento transitório da pressão de perfusão, com lesão glomerular e tubular direta, o que leva a um aumento do fluxo urinário, com elevação da excreção de sódio, potássio e cloreto.

Agradecimentos

Os autores agradecem a Silvia Helena pelo suporte técnico. Os autores também agradecem ao CNPq e Capes pelo apoio financeiro e bolsas de estudo.

Referências Bibliográficas

1. Chippaux JP, Goyffon M. Epidemiology of scorpionism: a global appraisal. *Acta Trop.* 2010/08;107:71-9.
2. Brasil, Ministério da Saúde: casos de acidentes por escorpiões. Acesso em: 10/11/12. Disponível em: <http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/tabela02_casos_escorpiao2000_2011_01_04_2011.pdf>
3. Possani LD, Becerril B, Delepierre M, Tytgat J. Scorpion toxin specific for Na⁺ channels. *Eur. J. Biochem.* 1999; 264: 287-300.
4. Rodriguez De La Vega, RC, Possani LD. Overview of scorpion toxins specific for Na⁺ channels and related peptides: biodiversity, structure-function relationships and evolution. *Toxicon.* 2005; 46:831-844.
5. Batista CVF, Román-González AS, Salas-Castillo SP, Zamudio FZ, Gómez-Lagunas, Possani LD. Proteomic analysis of the venom from the scorpion *Tityus stigmurus*: Biochemical and physiological comparison with other *Tityus* species. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part C* 2007; 146:147–157.
6. Abroug F, Ayari M, Nouria S, *et al.* Assessment of left ventricular function in severe scorpion envenomation: combined hemodynamic and echo-Doppler study. *Intensive Care Med.* 1995; 21(8):629-35.
7. Zeghal K, Souhir S, Guinot M; Richer C, Giudicelli JF. Characterization and mechanisms of the cardiovascular and haemodynamic alterations induced by scorpion venom in rats. *Fundam. Clin. pharmacol.*, 2000; 14:351-361.

8. Mazzei de D'Avila CA, D'Avila DF, Donis JH, Bellabarba GA, Villarreal V, Barboza JS. Sympathetic nervous system activation, antivenin administration and cardiovascular manifestations of scorpion envenomation. *Toxicon*. 2002; 40: 1339-46.
9. Brasil. Fundação Nacional de Saúde. Manual de Diagnóstico e tratamento de acidentes por animais peçonhentos. Gerência Técnica da Coordenação e Comunicação, Educação e Documentação. Ministério da Saúde, Brasília, 2001.
10. Brasil. Portal da Saúde. Acesso em 10/11/12. Disponível em: <http://portal.saude.gov.br/portal/saude/profissional/visualizar_texto.cfm?idtxt=31510>
11. Possani, L. D. Structure of scorpion toxins. In *Handbook of Natural Toxins* (Tu, A.T., ed.), Marcel Dekker, Inc., New York, 1984;2:513–550.
12. Muller, 1993; G. J. Scorpionism in South Africa. A report of 42 serious scorpion envenomations, *South African Medical Journal*, 1993; 83(6):405–411.
13. Gwee, M. C. E., Nirthanan, S., Khoo, H-E, *et al*. Autonomic effects of some scorpion venoms and toxins, *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*, 2002;29(9):795–801.
14. Vasconcelos, F., Lanchote, V. L., Bendhack, L. M., *et al*. Effects of voltage-gated Na⁺ channel toxins from *Tityus serrulatus* venom on rat arterial blood pressure and plasma catecholamines. *Comp. Biochem. Physiol. C Pharmacol. Toxicol*, 2005;141(1): 85-92.

15. Dehghani R, Fathi B. Scorpion sting in Iran: A review. *Toxicon*. 2012; 60:919-933.
16. Nunan EA, Moraes MFD, Cardoso VN, Moraes-Santos T. Effect of age on body distribution of tityustoxin from *Tityus serrulatus* scorpion venom in rats. *Life sciences*. 2003; 73: 319-325.
17. Alves RS, Barbosa PS, Martins RD, *et. al*. Renal effects and vascular reactivity induced by *Tityus serrulatus* venom. *Toxicon*. 2005;46(3):271-6.
18. Viswanathan S, Prabhu C. Scorpion sting nephropathy. *NDT Plus*. 2011;4:376–382.
19. Berger M, Vieira MAR, Guimarães JA. Acute Kidney Injury Induced by Snake and Arthropod Venoms. *Renal Failure - The Facts*. 2012, 157-186.
20. Naqvi R, Naqvi A, Akhtar F *et al*. Acute renal failure developing after a scorpion sting. *Br J Urol*. 1998; 82: 295.
21. Valavi E, Ansari MJ. Hemolytic uremic syndrome following *Hemiscorpius lepturus* (scorpion) sting. *Indian J Nephrol*. 2008; 18: 166–168.
22. Bowman RH. Gluconeogenesis in the isolated perfused rat kidney. *J.Biol. Chem.*, 1970; 245:1604–1612.
23. Walser M, Davidson DG, Orloff J. The renal clearance of alkali stable inulin. *J. Clin. Invest.*, 1955; 34:1520–1523.
24. Fonteles MC, Cohen JJ, Black, *et. al*. Support of renal kidney function by long-chain fatty acids derived from renal tissue. *Am. J. Physiol*. 1983; 244: 235-246

25. Martinez-Maldonado M, Opava-Stitzer R. Free water clearance curves during saline, mannitol, glucose and urea diuresis in the rat. *J Physiol.*, 1978; 280:487–497.
26. Mosmann, T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival application to proliferation and cytotoxicity assays. *J. Immunol. Methods*, v. 65, n.1/2, p. 55-63, 1983.
27. Morais ICO, Torres AFC, Pereira GJS, Pereira TP, Menezes RRPPB, Mello CP, Jorge ARC, Bindá AH, Toyama MH, Monteiro HSA, Smaili SS, Martins AMC. *Bothrops leucurus* venom induces nephrotoxicity in the isolated perfused kidney and cultured renal tubular epithelia. *Toxicon*, 2013; 61: 38-46.
28. Suntravat M, Yusuksawad M, Sereemasapun A, Pérez JC, Nuchprayoon I. Effect of purified Russell's viper venom-factor X activator (RVV-X) on renal hemodynamics, renal functions, and coagulopathy in rats. *Toxicon*, 2011; 58:230-238.
29. Mello SM, Linardi A, Rennó AL, Tarsitano CAB, Pereira EM, Hyslop S. Renal kinetics of *Bothrops alternatus* (Urutu) snake venom in rats. *Toxicon*, 2010; 55:470-480.
30. Kusma J, Chaim OM, Wille ACM, Ferrer VP, Sade YB, Donatti L, Gremski W, Mangili OC, Veiga SS. Nephrotoxicity caused by brown spider venom phospholipase-D (dermonecrotic toxin) depends on catalytic activity. *Biochimie*, 2008; 90:1722-1736.
31. Grisotto LSD, Mendes GE, Castro I, Baptista MASF, Alves VA, Yu L, Burdmann EA. Mechanisms of bee venom-induced acute renal failure. *Toxicon*, 2006; 48:44-54.

32. Vinhote JFC, Torres AFC, Dantas RT, *et al.* Renal- and calcium-dependent vascular effects of *Polybia paulista* wasp venom. *The Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases*. 2011; 17: 199-208.
33. Faco PEG, Havt A, Barbosa PSF, Nobre ACL, Bezerra GP, Menezes DB, Fonteles MC, Lopes-Ferreira M, Monteiro HSA Effects of *Thalassophryne nattereri* fish venom in isolated perfused rat kidney. *Toxicon*, 2003; 42:509-514.
34. Martins AMC, Barbosa PSF, Sousa DF, Alves CD, Menezes DB, Lima C, Lopes-Ferreira M, Fonteles MC, Monteiro HSA. Antivenom action on renal effects induced by *Thalassophryne nattereri* venom. *J Venom Anim Toxins incl Trop Dis.*, 2009;15(1):125-35.
35. Jalali A, Pipelzadeh MH, Seyedian R, Rahmani AH, Omidian N. In vivo pharmacological study on the effectiveness of available polyclonal antivenom against *Hemiscorpius lepturus* venom. *J Venom Anim Toxins incl Trop Dis*, 2011; 17(2):142-149.
36. Heidarpour M, Ennaifer E, Ahari H, Srairi-Abid N, Borchani L, Khalili G, Anvar AA, Boubaker S, El-Ayeb M, Shahbazzadeh D. Histopathological changes induced by *Hemiscorpius lepturus* scorpion venom in mice. *Toxicon*, 2012; 59(3):373-378.
37. Sitprija V. Animal toxins and the kidney. *Nature Reviews Nephrology*, 2008; 4:616-27.
38. Batista CVF, D'Suze G, Gómez-Lagunas F, Zamudio F, Encarnación S, Sevcik C, Possani LD. Proteomic analysis of *Tityus discrepans* scorpion venom and amino acid sequence of novel toxins. *Proteomics* 2006; 6:3718–3727.

39. Ismail M, Elsalam A. Are the toxicological effects of scorpion envenomation related to tissue venom concentration? *Toxicon*, 1988; 26:233-236.
40. Badzyńska B, Sadowski J. Moderate intrarenal vasoconstriction after high pressor doses of norepinephrine in the rat: comparison with effects of angiotensin II. *Kidney Blood Press Res*, 2011; 34(5):307-310.
41. Angelo K, Korolkova YV, Grunnet M, Grishin EV, Pluzhnikov KA, Klaerke DA, Knaus HG, Møller M, Olesen SP. A radiolabeled peptide ligand of the hERG channel, [125I]-BeKm-1. *Pflugers Arch.*, 2003; 447(1):55-63.
42. Sitprija V, Sitprija S. Renal effects and injury induced by animal toxins. *Toxicon*, 2012; 60:943–953.
43. Harvey AL, Rowan EG, Vatanpour H, Fatehi M, Castaneda O, Karlsson E. Potassium channel toxins and transmitter release. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 1994; 710:1–10.
44. Ismail, M., Gumaa, K.A., Osman, O.H., El-Asmar, M.F., 1978. Effect of *Buthus minax* (L. Koch) scorpion venom on plasma and urinary electrolyte levels. *Toxicon* 16, 385–392.
45. Duchen MR. Mitochondria and calcium: from cell signalling to cell death. *Journal of Physiology*, 2000; 529 Pt 1:57-68.

Legenda das Figuras

Figura 1 – Efeitos da peçonha de *Tityus stigmurus* (TsV) na pressão de perfusão (a), resistência vascular renal (b), fluxo urinário (c), e ritmo de filtração glomerular (d). Os dados estão expressos como média $\pm$ EPM de seis animais diferentes. * $p < 0,05$ comparado com o grupo controle correspondente para cada intervalo. # $p < 0,05$ em comparação com a concentração de 0.3 $\mu\text{g/mL}$ para cada intervalo.

Figura 2 – Efeitos da peçonha de *Tityus stigmurus* (TsV) na excreção de sódio (a), potássio (b) e cloreto (c). Os dados estão expressos como média $\pm$ EPM de seis animais diferentes. * $p < 0,05$ comparado com o grupo controle correspondente para cada intervalo. # $p < 0,05$ em comparação com a concentração de 0.3 $\mu\text{g/mL}$ para cada intervalo.

Figura 3 - Efeitos da peçonha de *Tityus stigmurus* (TsV) sobre a viabilidade celular MDCK (%). Os dados estão expressos como média $\pm$ SEM de três ensaios diferentes.

Tabela 1. Análise histológica qualitativa dos rins perfundidos com peçonha de *T. stigmurus* nas concentrações de 0,3 e 1,0 $\mu\text{g/mL}$.

Fig. 1

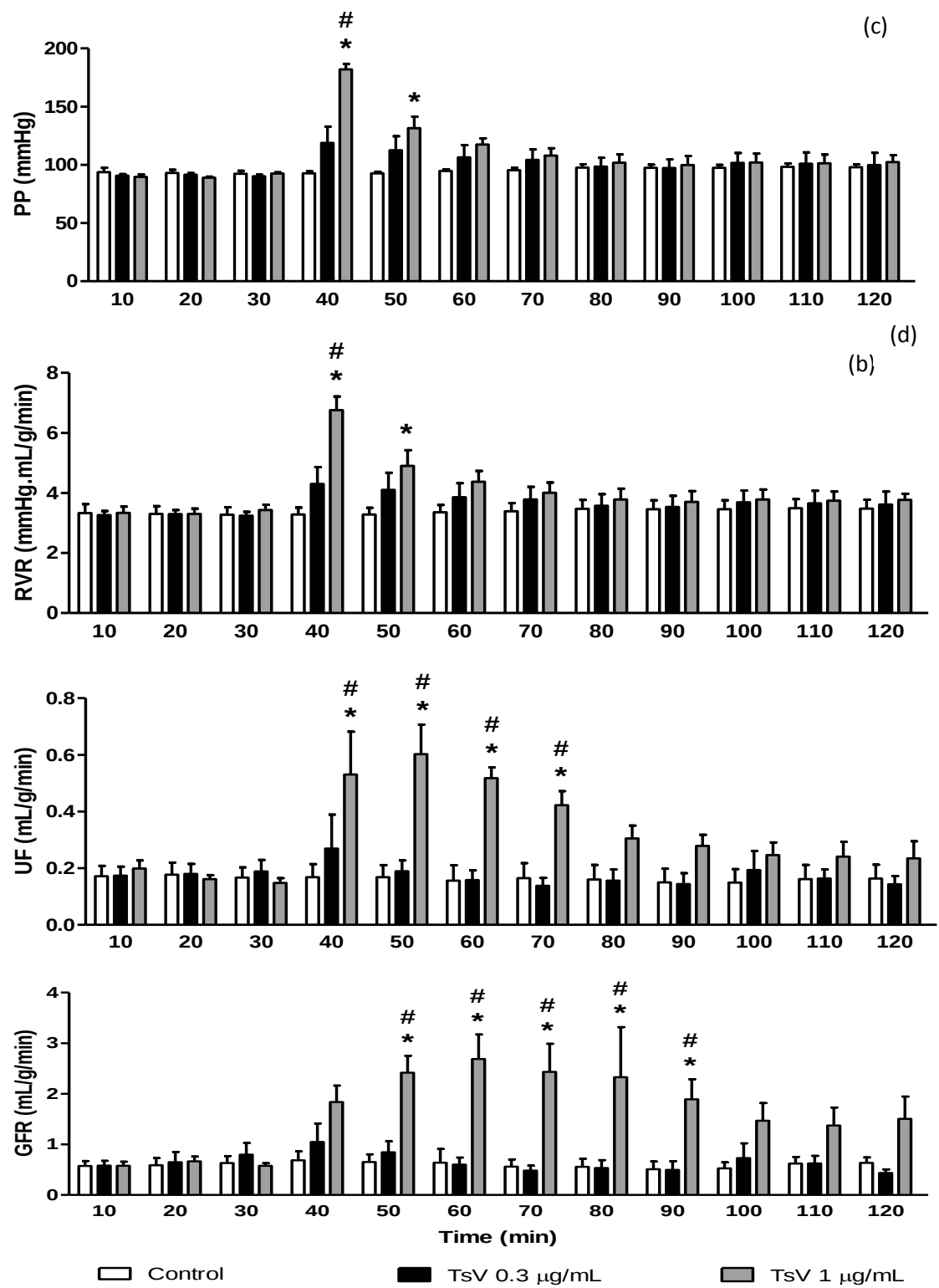


Fig. 2

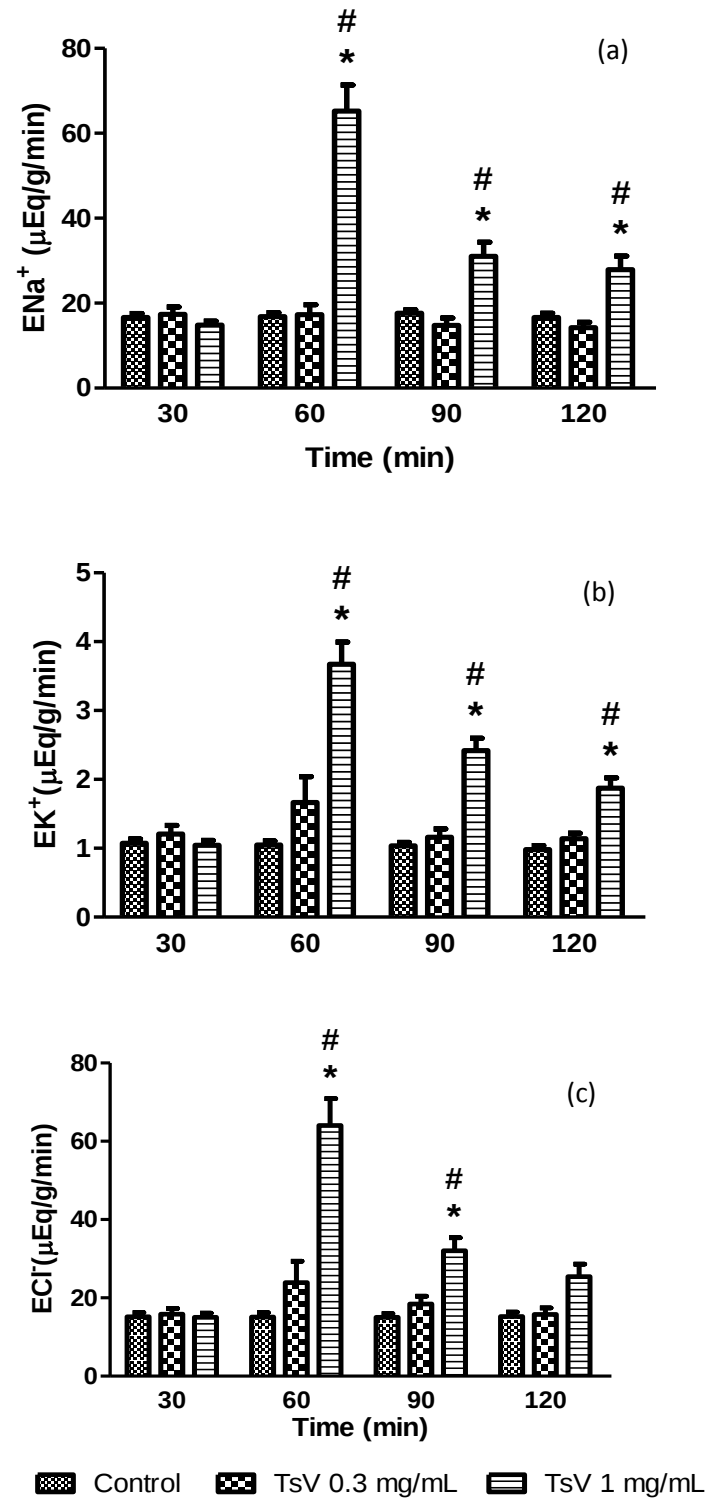


Fig. 3

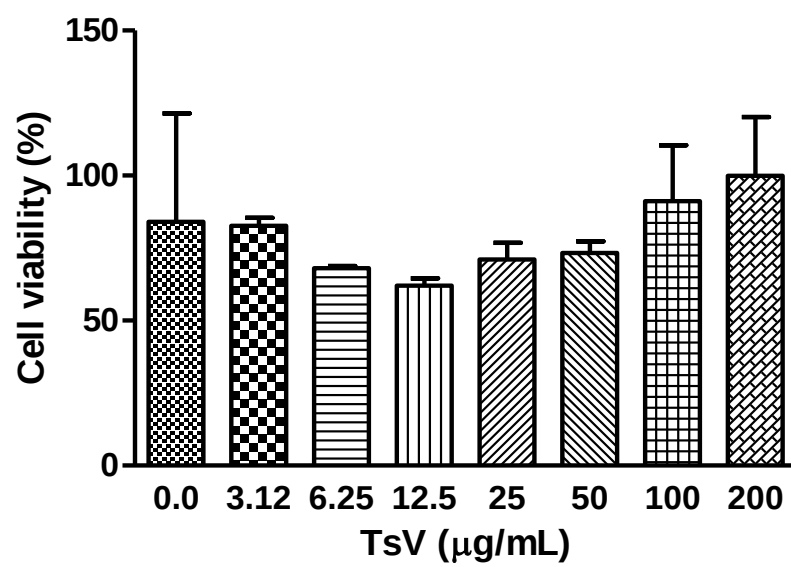


Tabela 1.

Grupo	Alterações Histológicas	Frequencia
Controle (Sem perfusão renal)	Não foram observadas alterações nos glomérulos e túbulos	-
Controle (Rim perfundido)	Não foram observadas alterações nos glomérulos e túbulos	-
TsV 0.3 µg/mL	Glomérulos normais Depósitos de pequenas proteínas no TCP e TCD Degeneração hidrópica das células epiteliais tubulares de TCP e TCD Infiltrado Inflamatório	(6/6) (4/6) (1/6) (0/6)
TsV 1.0 µg/mL	Glomérulos normais Depósitos de proteínas no TCP e TCD Degeneração hidrópica das células epiteliais tubulares de TCP e TCD Infiltrado Inflamatório	(6/6) (6/6) (3/6) (0/6)

Nota: TsV – Peçonha de *Tityus stigmurus*; TCP – túbulo contorcido proximal; TCD – túbulo contorcido distal.