

Guilherme Gonelli Paz

Soroterapia escorpionica na gestação e seus efeitos na prole de
ratos

Dissertação apresentada ao Programa de
Pós-Graduação em Toxinologia do Instituto
Butantan, para obtenção do título de Mestre
em Ciências.

São Paulo
2022

Guilherme Gonelli Paz

Soroterapia escorpônica na gestação e seus efeitos na prole de
ratos

Dissertação apresentada ao Programa de
Pós-Graduação em Toxinologia do Instituto
Butantan, para obtenção do título de Mestre
em Ciências.

Orientadora: Dra. Ana Leonor Abrahão
Nencioni

São Paulo
2022

Dados internacionais de catalogação na publicação

Catalogação na Publicação
Instituto Butantan
Dados inseridos pelo(a) aluno(a)

Paz, Guilherme Gonelli

Soroterapia escorpionic na gestação e seus efeitos na prole de ratos / Guilherme Gonelli Paz ; orientador(a) Ana Leonor Abrahão Nencioni - São Paulo, 2022.

65 p. : il.

Dissertação (Mestrado) - Escola Superior do Instituto Butantan, Programa de Pós-Graduação em Ciências - Toxinologia. Linha de pesquisa: Toxinas e sistemas biológicos.

Versão corrigida final

1. Tityus 2. Soro antiescorpionico. 3. Fisiopatologia. 4. Perinatal I. Nencioni, Ana Leonor Abrahão. II. Escola Superior do Instituto Butantan. III. Programa de Pós-Graduação em Ciências - Toxinologia. IV. Título.

Ficha catalográfica elaborada pela equipe da Biblioteca do Instituto Butantan

Esta monografia foi elaborada com base no **Guia prático para elaboração de trabalho acadêmico** desenvolvido pela Biblioteca do Instituto Butantan, de acordo com as normas da ABNT (Associação Brasileira de Normas Técnicas).

AUTORIZAÇÃO PARA REPRODUÇÃO DE TRABALHO

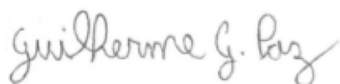
Eu, Guilherme Gonelli Paz, aluno de mestrado do Programa de Pós-graduação em Ciências-Toxinologia do Instituto Butantan, autorizo a divulgação de minha dissertação/tese por mídia impressa eletrônica ou qualquer outra, assim como a reprodução total desta dissertação/tese após publicação, para fins acadêmicos desde que citada a fonte.

Prazo de liberação da divulgação da dissertação/tese após a data da defesa:

- Imediato
- 06 meses
- 12 meses
- Não autorizo a divulgação

Justifique:

São Paulo, 1 de dezembro de 2022



Aluno: Guilherme Gonelli Paz

De acordo: Dra. Ana Leonor Abrahão Nencioni

Orientador(a): 



PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS-TOXINOLOGIA
INSTITUTO BUTANTAN

RESULTADO DA DEFESA DE DISSERTAÇÃO

MESTRADO

NOME DO ALUNO: Guilherme Gonelli Paz

DATA DO EXAME: 15/02/2023

BANCA EXAMINADORA: Profs. Drs.

NOME	Assinatura	Aprovado	Reprovado
Ana Leonor Abrahão Nencioni (Presidente)		(X)	()
Maria Martha Bernardi		(X)	()
Daniel Carvalho Pimenta		(X)	()

DECISÃO FINAL: APROVADO (X) REPROVADO ()

Comentários da Banca (opcional):

CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "Soroterapia escorpionica na gravidez e seus efeitos na prole.", protocolada sob o CEUA nº 2366291119 (ID 002005), sob a responsabilidade de **Ana Leonor Abrahão Nencioni e equipe; Guilherme Gonelli Paz** - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino - está de acordo com os preceitos da Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, com o Decreto 6.899 de 15 de julho de 2009, bem como com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **aprovada** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Instituto Butantan (CEUAIB) na reunião de 19/02/2020.

We certify that the proposal "Scorpionic sorotherapy in pregnancy and its effects on offspring", utilizing 810 Heterogenics rats (males and females), protocol number CEUA 2366291119 (ID 002005), under the responsibility of **Ana Leonor Abrahão Nencioni and team; Guilherme Gonelli Paz** - which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata (except human beings), for scientific research purposes or teaching - is in accordance with Law 11.794 of October 8, 2008, Decree 6899 of July 15, 2009, as well as with the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA), and was **approved** by the Ethic Committee on Animal Use of the Butantan Institute (CEUAIB) in the meeting of 02/19/2020.

Finalidade da Proposta: **Pesquisa**

Vigência da Proposta: de **02/2020** a **02/2022** Área: **Farmacologia**

Origem:	Biotério Central	sexo:	Fêmeas	idade:	2 a 4 meses	N:	60
Espécie:	Ratos heterogênicos			Peso:	250 a 350 g		
Linhagem:	Wistar						
Origem:	Não se aplica	sexo:	Machos e Fêmeas	idade:	0 a 0 dias	N:	750
Espécie:	Ratos heterogênicos			Peso:	5 a 7 g		
Linhagem:	Wistar						

Local do experimento: Laboratório de Farmacologia

São Paulo, 08 de março de 2022



Maria Leonor Sarno de Oliveira
Coordenador da Comissão de Ética no Uso de Animais
Instituto Butantan



Nancy Oguiura
Vice-Coordenadora da Comissão de Ética no Uso de Animais
Instituto Butantan

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001

RESUMO

PAZ, Guilherme Gonelli. **Soroterapia escorpiônica na gestação e seus efeitos na prole**. 2022. 65 p. Dissertação (Mestrado em Ciências – Toxinologia) – Instituto Butantan, São Paulo, 2022.

Tityus serrulatus é o escorpião mais peçonhento do Brasil. Pouco se sabe dos efeitos da exposição materna à peçonha e à soroterapia no desenvolvimento fetal. Investigou-se o efeito de doses moderadas da peçonha (4mg/kg s.c.) no segundo (GD2) ou décimo (GD10) dia da gestação em ratas prenhes e seus filhotes, bem como o efeito do tratamento soroterápico (2 doses de 0,2ml i.p.). As fêmeas foram avaliadas quanto a seu ganho de massa, parâmetros reprodutivos e dieta. Fêmeas de GD2 e GD10 expostas à peçonha apresentaram aumento na ingestão de água, indicando alterações fisiológicas destas fêmeas, devido à ação direta ou indireta da peçonha em seus organismos. Nos filhotes foram observados suas massas e respectivos órgãos (placenta, rins, fígado, coração e pulmão), número de filhotes vivos ou mortos e anomalias viscerais e esqueléticas no dia 21 gestacional. Filhotes de fêmeas expostas à peçonha em GD2 apresentaram diminuição na massa das placentas em relação aos grupos que não foram expostos, enquanto em GD10 observou-se diminuição da massa dos filhotes e de seus órgãos em relação aos grupos que não foram expostos, indicando que a exposição à peçonha de *T. serrulatus* resulta em alterações no desenvolvimento de filhotes de ratas no período gestacional. O grupo envenenado e tratado com soro não apresentou mudanças significativas, indicando que o soro de certa forma foi capaz de neutralizar os efeitos causados pela peçonha. Além disso, tanto em GD2 quanto em GD10 o grupo tratado somente com o soro não apresentou quase nenhuma alteração, salvo aumento da massa do coração de filhotes em GD2. Todos estes dados indicam vantagens do tratamento soroterápico, podendo anular os efeitos deletérios da exposição à peçonha no período pré-natal.

Palavras-chave: *Tityus*. Soro antiescorpiônico. Fisiopatologia. Perinatal. Gestação.

ABSTRACT

PAZ, Guilherme Gonelli. **Scorpionic serotherapy during gestation and its effects on the offspring**. 2022. 65 p. Master's thesis (Master's degree in Sciences - Toxinology) Instituto Butantan, São Paulo, 2022

Tityus serrulatus is the most venomous scorpion in Brazil. Little is known about the effects of maternal exposure to venom and serum therapy on fetal development. The effect of moderate doses of venom (4mg/kg s.c.) on the second (GD2) or tenth (GD10) day of pregnancy in pregnant rats and their offspring was investigated, as well as the effect of serum therapy (2 doses of 0.2ml i.p.). The females were evaluated for their weight gain, reproductive and dietary parameters. GD2 and GD10 females exposed to the venom showed an increase in water intake, indicating physiological changes in these females, due to the direct or indirect action of the venom on their bodies. In the pups, their weights and respective organs (placenta, kidneys, liver, heart and lungs), number of live or dead pups and visceral and skeletal abnormalities on the 21st gestational day were observed. Pups of females exposed to the venom in GD2 showed a decrease in the weight of the placentas in relation to the groups that were not exposed, while in GD10 there was a decrease in the weight of the pups and their organs in relation to the groups that were not exposed, indicating that the exposure to *T. serrulatus* venom results in alterations in the development of rat pups during the gestational period. The group poisoned and treated with serum showed no changes, indicating that the serum was somehow able to neutralize the effects caused by the venom. In addition, the group treated both in GD2 and in GD10 with serum alone showed almost no change, except for an increase in the heart weight of pups in GD2. All these data show advantages of serum therapy during pregnancy, nullifying the deleterious effects of exposure to venom during the prenatal period.

Keywords: *Tityus*. Antiscorpion serum. Patophysiology. Perinatal. Pregnancy.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Notificações do SINAN de acidentes envolvendo escorpião, aranha e serpente no período de 2007 a 2021 (atualizados até a data de 8 de agosto de 2022).	11
Figura 2 - Esquema da posição dos cortes para análise visceral.....	27
Figura 3 - Corte da placenta de GD10.....	30
Figura 4 - Massa de filhotes de GD2 e suas placentas.	35
Figura 5 - Massa relativa dos órgãos de filhotes de GD2.....	36
Figura 6 - Massa de filhotes de GD10 e suas placentas	41
Figura 7 - Massa relativa dos órgãos de filhotes de GD10.....	42
Figura 8 - Corte do globo ocular de filhote do grupo antiveneno apresentando malformação em comparação a um globo ocular saudável	44
Figura 9 - Corte do coração e pulmão de filhotes do grupo GD10.	45
Figura 10 - Corte do fígado e bexiga de filhotes do grupo GD10	46
Figura 11 - Corte do globo ocular de filhotes do grupo GD10.....	47
Figura 12 - Corte da tireóide e traquéia de filhotes do grupo GD10	48
Figura 13 - Área relativa da zona labirinto de placentas de GD10	49

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	11
1.1. Escorpionismo.....	11
1.2. Envenenamento.....	12
1.2.1. Fisiopatologia.....	13
1.2.1.1. Sistema nervoso.....	13
1.2.1.2. Inflamação.....	13
1.2.2. Envenenamento Perinatal.....	14
1.3. Soroterapia.....	16
1.4. Soroterapia na Gestação.....	17
2. JUSTIFICATIVA.....	19
3. OBJETIVOS.....	20
4. MATERIAIS E MÉTODOS.....	21
4.1. Sujeitos Experimentais.....	21
4.2. Drogas e Reagentes.....	21
4.3. Métodos.....	22
4.3.1. Cruzamento de Animais e Diagnóstico de Prenhez.....	22
4.3.2. Tratamento.....	23
4.3.3. Avaliação da Toxicidade Materna.....	24
4.3.4. Laparotomia e Avaliação do Desempenho Reprodutivo Materno.....	24
4.3.5. Preparação dos Filhotes.....	25
4.3.5.1. Diafanização e Análise Esquelética.....	25
4.3.5.2. Fixação e Análise Visceral.....	26
4.3.6. Análise histológica da placenta.....	27
4.3.7. Análise Estatística dos Resultados.....	31
5. RESULTADOS.....	32
5.1. Grupo GD2.....	32
5.1.1. Performance Reprodutiva.....	32

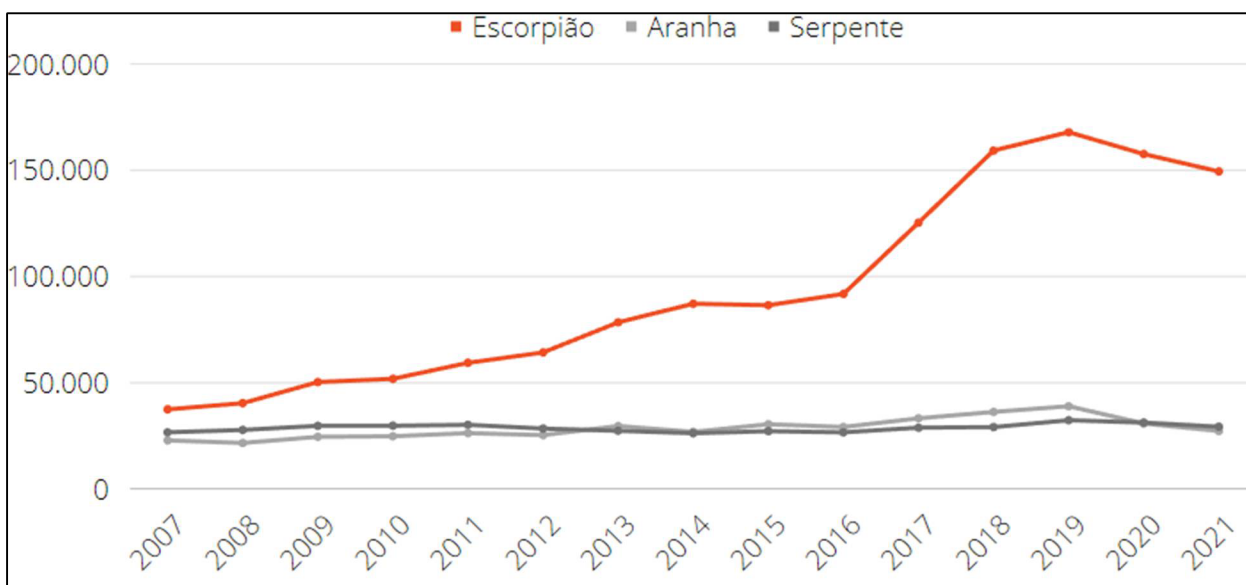
5.1.2. Efeitos Maternos.....	33
5.1.3. Efeitos Morfológicos da Prole.....	34
5.2. Grupo GD10.....	38
5.2.1. Performance Reprodutiva.....	38
5.2.2. Efeitos Maternos.....	38
5.2.3. Efeitos Morfológicos na Prole.....	40
5.2.4. Histologia da placenta.....	49
6. DISCUSSÃO.....	50
7. CONCLUSÃO.....	55
REFERÊNCIAS.....	56

1. INTRODUÇÃO

1.1 Escorpionismo

O envenenamento escorpiônico, também chamado de escorpionismo, representa um problema de saúde pública principalmente em regiões de climas tropicais e subtropicais, favoráveis para a proliferação de escorpiões, como no Irã, Iraque, Arábia Saudita, África, México e Brasil, estimando cerca de 1,5 milhões de casos anuais (CHIPPAUX e GOYFON, 2008; CHIPPAUX, 2012; ISBISTER e BAWASKAR, 2014; CUPO, 2015; SANTOS *et al.*, 2016 WARD *et al.*, 2018; ZUHAIR *et al.*, 2020; MONTEIRO *et al.*, 2019). Representa 52% (1.404.265) dos casos relacionados a animais peçonhentos notificados pelo SINAN no período de 2007 – 2021 (figura 1), resultando em 1.435 óbitos neste mesmo período.

Figura 1 - Notificações do SINAN de acidentes envolvendo escorpião, aranha e serpente no período de 2007 a 2021 (atualizados até a data de 8 de agosto de 2022).



Fonte: Sistema de Informação de Agravos de Notificação (SINAN), 2022

A principal família de escorpiões de interesse médico é a *Buthidae*, com destaque ao gênero *Tityus*, apresentando mais de 200 espécies, seguido pelo gênero *Ananteris*, apresentando mais de 80 espécies (CHIPPAUX e GOYFON, 2008; OCHOA e PANTEPUI, 2019). No Brasil, quatro escorpiões do gênero *Tityus* se destacam, sendo eles o *Tityus serrulatus* (escorpião-amarelo), *Tityus stigmurus* (escorpião-do-nordeste), *Tityus bahiensis* (escorpião-preto) e *Tityus obscurus* (escorpião-preto-da-Amazônia) (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2001; RECKZIEGEL e PINTO, 2014; GOMES *et al.*, 2020).

1.2 Envenenamento

Apesar de variar conforme espécie e regiões, a peçonha escorpiônica, de modo geral, é composta por diversas substâncias como fosfolipases, mucopolissacarídeos e hialuronidases, além de proteínas de baixa massa molecular denominadas neurotoxinas, que atuam em sítios específicos de canais iônicos dependentes de voltagem presentes nos neurônios, provocando liberação exacerbada de neurotransmissores como catecolaminas e acetilcolina, responsáveis por ocasionar hiperexcitação dos sistemas adrenérgicos e colinérgicos do indivíduo envenenado (CHIPPAUX e GOYFON, 2008; CHIPPAUX, 2012; CUPO, 2015; EVANS *et al.*, 2019; GANGUR *et al.*, 2017; ISBISTER e BAWASKAR, 2014; PUCCA *et al.*, 2015; QUINTERO-HERNÁNDEZ *et al.*, 2013; SHAMOON *et al.*, 2021).

A sintomatologia do envenenamento escorpiônico está relacionada com a gravidade do envenenamento (leve, moderada ou grave), e é diretamente ligada a fatores como espécie e tamanho do escorpião, quantidade de peçonha inoculada, número de picadas, sensibilidade à peçonha e tempo decorrido entre o acidente e o atendimento médico (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2001; CHIPPAUX, 2012; FRASSONE *et al.*, 2019). A gravidade dependerá principalmente da intensidade e característica do sintoma, indo de manifestações locais como edema e dores intensas na região da picada a manifestações sistêmicas como sudorese, náuseas e vômitos, hipertensão arterial, taquicardia e taquipneia, podendo evoluir a choque cardiocirculatório e edema pulmonar nos casos

mais graves (COLOGNA *et al.*, 2009; CHIPPAUX, 2012; ISBISTER e BAWASKAR, 2014; CUPPO, 2015; PUCCA *et al.*, 2015; FRASSONE *et al.*, 2019).

1.2.1 Fisiopatologia

1.2.1.1 Sistema nervoso

Neurotransmissores como catecolaminas e acetilcolina são responsáveis pela maior parte da fisiopatologia do envenenamento escorpiónico, que afeta o sistema nervoso adrenérgico e colinérgico. A hiperexcitação do sistema nervoso adrenérgico ocasiona diversas complicações cardiocirculatórias como hipertensão, taquicardia e taquipneia, resultantes principalmente da vasoconstrição periférica e da ação das catecolaminas no músculo cardíaco, provocando estresse cardíaco que pode evoluir a edema pulmonar com o extravasamento de líquido dos capilares pulmonares na cavidade pulmonar, e, em casos extremos, parada cardíaca e morte (BAHLOUL *et al.*, 2012; BAHLOUL *et al.*, 2013; CHIPPAUX, 2012; COLOGNA *et al.*, 2009; CUPO, 2015; GUERON, STERN e COHEN, 1967; ISBISTER e BAWASKAR, 2014; SOUHEIL *et al.*, 2015; TEIXEIRA e TEIXEIRA, 2003). Em contrapartida, a hiperexcitação do sistema nervoso colinérgico provoca aumento de secreções e motilidade do músculo liso, resultando em diarreia, sudorese, sialorreia, vômito e incontinência urinária (ADEYINKA e KONDAMUDI, 2021; CHIPPAUX, 2012; JONES, 2021).

1.2.1.2 Inflamação

Além da ação do sistema nervoso, a liberação de mediadores inflamatórios também se faz importante na fisiopatologia do envenenamento escorpiónico, impactando diretamente na dor e nas complicações cardiopulmonares presentes neste acidente

(COLOGNA *et al.*, 2009; CHIPPAUX, 2012; PUCCA *et al.*, 2015; REIS *et al.*, 2019). Segundo Fukuhara *et al.*, (2003), o envenenamento escorpiônico desencadeia uma “tempestade de citocinas” pró inflamatórias como IL-1 beta, TNF alfa e IL-6, que podem estimular a liberação de fatores de ativação de plaquetas, leucotrienos ou quimiocinas, que estimularão os leucócitos a produzir danos teciduais e edemas em processos multifatoriais, danos estes que estão presentes nos tecidos cardíacos e pulmonares em envenenamentos mais graves, contribuindo para a falência destes órgãos.

1.2.2 Envenenamento perinatal

Estudos demonstraram que o envenenamento escorpiônico experimental em ratas prenhes pode afetar o desenvolvimento do feto (BARÃO, NENCIONI e DORCE, 2008; CRUTTENDEN *et al.*, 2008; DORCE *et al.*, 2014). A peçonha consegue induzir respostas neurológicas e imunológicas que desencadeiam hipo ou hipertensão arterial e hiperglicemia, fatores de risco no período gestacional por provocar malformações embrionárias e fetais, levando a morte do feto em casos extremos (BEN NASR *et al.*, 2009; revisado por DORCE *et al.*, 2017). Além disso, pode provocar contrações uterinas devido à ação direta ou indireta das toxinas no músculo pélvico, causando em alguns casos abortos espontâneos (ATES *et al.*, 2018). A alteração na produção de diversas citocinas no envenenamento também é fator de risco na gestação, uma vez que várias citocinas estão envolvidas na implantação do blastocisto, formação embrionária e desenvolvimento do sistema nervoso central (CHIPPAUX, 2012; COLOGNA *et al.*, 2009; MOUSA e BAKHIET, 2013; PETRICEVICH, 2010; PUCCA *et al.*, 2015; REIS *et al.*, 2019).

Alterações morfológicas em filhotes de ratos foram observadas após administração da peçonha escorpiônica em ratas prenhes, como o aumento da massa do feto, pulmão, fígado e coração em relação ao grupo controle, além de mudanças no processo de abertura dos ouvidos, surgimento dos dentes incisivos e abertura vaginal no período pós-natal, cuja possível causa segundo autores está relacionada com alterações

nos fatores de crescimento, importantes no reparo, diferenciação e desenvolvimento celular (DORCE *et al.*, 2009; DORCE, DORCE e NENCIONI, 2010; DORCE, DORCE e NENCIONI, 2014). Ocorreram também mudanças reflexológicas como diminuição da atividade motora e reflexos posturais dos filhotes que, segundo autores, podem ser explicadas pelas alterações de produção dos neurotransmissores, importantes nas respostas neuromotoras (DORCE, DORCE e NENCIONI, 2010, DORCE *et al.*, 2017).

Alterações dos parâmetros reflexológicos e físicos também foram observados experimentalmente no envenenamento escorpiônico pós-natal, no período de lactação, demonstrando que a peçonha escorpiônica afeta o desenvolvimento dos filhotes mesmo quando o envenenamento ocorrer após o nascimento. Isto pode assim indicar que diversas vias importantes no desenvolvimento perinatal são alteradas pelas toxinas escorpiônicas, como, por exemplo, a composição do leite materno, tanto pela presença da peçonha no leite, como de outras substâncias resultantes do envenenamento, que serão absorvidas pelos filhotes na amamentação (MARTINS *et al.*; 2016). Além disso, o envenenamento por *T. serrulatus* em fêmeas lactantes resultou na diminuição dos cuidados maternos e diminuição do limiar convulsivo dos filhotes (BARBOSA *et al.* 2021). Conforme os autores, isto pode ter ocorrido diretamente com citocinas liberadas no envenenamento ou componentes da própria peçonha sendo passadas do leite para o filhote, alterando o desenvolvimento neuronal dos filhotes, ou indiretamente por meio do estresse causado nos filhotes devido à falta de cuidados maternos resultantes do envenenamento de suas mães.

1.3 Soroterapia

A soroterapia é indicada em casos moderados e graves de envenenamento por escorpião (CUPO, 2015). O soro é obtido a partir de animais imunizados com doses da peçonha que fará parte do conjunto de anticorpos do soro em questão, separando os anticorpos produzidos pela imunização de outros componentes do plasma, seguido por digestão enzimática, o anticorpo e purificação do produto final, resultando assim em um fragmento purificado de anticorpos (CHIPPAUX, 2012; MEBS, 2002).

Atualmente existem 19 tipos de soro antiescorpiônico destinados a seres humanos, todos de origem equina (LAUSTSEN *et al.*, 2016). Devido sua origem heteróloga, podem causar reações adversas variadas, principalmente reações de hipersensibilidade como, por exemplo, a doença do soro, caracterizada por reação do complexo imune do tipo III causando urticária, erupção cutânea, artralgia, mialgia ou febre 5 a 15 dias após o tratamento (BOYER *et al.*, 2013; KO e CHUNG, 2013). Caso haja algum tipo de reação, é recomendada a administração de medicamentos como epinefrina, anti-histamínicos ou corticosteroides para reverter os sintomas de hipersensibilidade (SILVA *et al.*, 2016). Com intuito de diminuir estes efeitos de hipersensibilidade, a utilização de anticorpos monoclonais no processo de produção dos mesmos está sendo estudada experimentalmente, visando uma maior especificidade para os antígenos das peçonhas (LAUSTSEN *et al.*, 2016).

Apesar de a soroterapia ser o método mais utilizado nos envenenamentos, seu uso demonstra-se mais eficaz quando atrelado a tratamentos coadjuvantes visando principalmente efeitos cardiovasculares, visto que o soro antiescorpiônico possui baixa eficiência em neutralizar estes sintomas devido à presença de substâncias na peçonha que atuam diretamente no sistema cardiovascular e que não são neutralizadas pelos anticorpos presentes no soro (BAWASKAR, 2007; AL-ASMARI *et al.*, 2008; ABROUG *et al.*, 2003, TARASIUK, 1998). Sua eficiência sem o auxílio de tratamentos coadjuvantes é questionável, devido à presença de diversas espécies de escorpião presentes no mundo que podem causar acidentes graves, sendo necessário a administração de soro

específico para algumas espécies, necessitando a utilização de medicamentos que atuem na regulação dos processos biológicos alterados no envenenamento. A prazosina, por exemplo, atua diretamente no sistema cardiovascular, podendo ser utilizada em qualquer envenenamento escorpiônico, não dependendo da espécie que o causou (BAWASKAR, 2011). Além disso, estudos demonstram que o tratamento soroterápico no envenenamento por escorpiões de países da Europa e Ásia é ineficaz em acelerar o processo de recuperação dos pacientes, diferente do envenenamento por escorpiões presentes em países da América, cujo tratamento demonstra-se eficaz neste processo (ABROUG *et al.*, 2011).

1.4 Soroterapia na gestação

Estudos sobre os efeitos da soroterapia na gestação são escassos, em sua maioria antigos e sem indicação exata se a utilização do soro é fator de risco na gravidez. Sua utilização em gestantes necessita considerar o potencial de reações alérgicas do tipo 1 (anafilaxia) ou do tipo 3 (doença do soro), uma vez que estes efeitos podem ser fatais para o feto (RAMIREZ-CRUZ, RAYBURN e SEIFERT; 2022).

Revisões de casos realizados acerca deste tema indicam haver maior perda fetal em mulheres grávidas envenenadas tratadas com soro em relação a mulheres envenenadas que não foram submetidas à soroterapia. Dunnihoo *et al.* (1992) indica perda fetal em 43% dos casos estudados em relação a mulheres envenenadas por serpentes e não foram tratadas por soroterapia, contra 58% dos casos estudados em relação a mulheres envenenadas e receberam o tratamento. Langley *et al.* (2010) apresenta dados parecidos, demonstrando em estudo com 213 gestantes envenenadas por serpentes que 30,2% das pacientes que receberam o soro tiveram morte fetal, contra 11,3% mortes fetais das pacientes que não receberam o soro. Por fim, Boyer *et al.* (2013) demonstra em revisão de caso que uma de duas mulheres envenenadas por escorpiões do gênero *Centruroides* submetidas a tratamento escorpiônico apresentou aborto espontâneo.

Apesar de possíveis efeitos negativos da soroterapia na gestação, Demirel *et al.* (2021) demonstrou efeitos benéficos em tecido cerebral de ratas fêmeas e de seus filhotes após o envenenamento pelo escorpião *Androctonus crassicauda* seguido pelo tratamento soroterápico. Segundo autores, o tratamento soroterápico ocasionou efeito neuroprotetor tanto nos filhotes quanto nas fêmeas prenhes.

2. JUSTIFICATIVA

Poucos estudos em relação ao desenvolvimento perinatal após a utilização de soro antiescorpiônico foram conduzidos, estudos estes que seriam de extrema importância para a saúde pública, a fim de elucidar se há riscos ou não para o feto durante seu período de gestação, bem como em seus primeiros dias de vida e, se caso houver, quais são eles e o que podemos fazer para evitá-los.

Em vista disso, o presente estudo tem como finalidade verificar se o soro inibe efeitos causados pelas toxinas presentes na peçonha do escorpião *T. serrulatus* nos filhotes de fêmeas prenhes expostas à peçonha, evitando o aparecimento das alterações físicas que ocorrem em sua prole, bem como se o próprio soro causa algum efeito deletério nos filhotes.

3. OBJETIVOS

Este projeto visa avaliar mudanças no desenvolvimento pré-natal de ratos ao aplicar soro antiescorpiônico em ratas prenhes expostas à peçonha do escorpião *T. serrulatus*, analisando possíveis alterações físicas e histológicas em sua prole, como alteração de massa, mortes fetais, deformidades ou alteração estrutural macroscópica.

Procura também analisar se os efeitos causados no desenvolvimento pré-natal pela peçonha do *T. serrulatus* são de alguma forma revertidos ou diminuídos após o tratamento soroterápico. Tendo em vista que pesquisas em relação a este tema são escassas, o projeto aqui apresentado mostra-se de extrema importância e interesse para a saúde pública.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 *Sujeitos experimentais*

Foram utilizados *Rattus norvegicus* de raça Wistar (machos: 300 a 350 g e fêmeas: 250 a 300 gramas) fornecidos pelo Biotério do Instituto Butantan, mediante protocolo CEUAIB 2366291119, para cruzamentos e obtenção dos fetos utilizados nos experimentos. Os animais foram acondicionados a 22 ± 2 °C, com ciclo de luz claro e escuro de 12 horas, no Biotério do Laboratório de Farmacologia do Instituto Butantan. Água potável e ração foram fornecidas “ad libitum” em quantidade específica (300g de ração e 700ml de água potável, sendo trocadas após cada pesagem dos mesmos) durante todo o processo experimental.

4.2 *Drogas e reagentes*

- Veneno bruto liofilizado do escorpião *T. serrulatus*, obtido pelo Laboratório de Artrópodes do Instituto Butantan e fornecido pelo Núcleo Estratégico de Venenos e Antivenenos;
- Solução Salina 0,9%;
- Soro Antiescorpiônico para veneno de *T. serrulatus* – Instituto Butantan fornecido pelo Núcleo Estratégico de Venenos e Antivenenos;
- Acetona P.A. – Synth;
- Líquido de Bouin (Ácido Pícrico puro P.A. – Dinâmica; Formaldeído P.A. 37% — Synth; Ácido Acético Glacial P.A. – Synth);

- Solução de Hidróxido de Potássio (0,8%) – Sigma – Aldrich;
- Alizarina (Solução saturada) – Synth;
- Solução Álcool Etílico 80% (Álcool Etílico P.A. – Synth; Água Destilada);
- Solução Álcool Etílico 90% (Álcool Etílico P.A. – Synth; Água Destilada);
- Solução Clareadora (2:2:1) (Álcool Etílico P.A. – Synth; Glicerina P.A. – Synth; Álcool Benzílico P.A. – Synth);
- Solução Formaldeído a 10% (Formaldeído P.A. 37% — Synth, Água Destilada.
- Hematoxilina — Merck
- Eosina — Merck
- Parafina — Synth
- Xilol Synth
- Entellan — Merck
- Diferenciador de hematoxilina (1% Ácido clorídrico P.A. — Synth, 99% Álcool Etílico — Synth 70%)

4.3 Métodos

4.3.1 Cruzamento de animais e diagnóstico de prenhez

As ratas foram agrupadas em gaiolas de polietileno (40 × 50 × 20 cm) com tampa metálica contendo duas fêmeas cada. Um macho foi colocado na gaiola das fêmeas no final do dia e retirado pela manhã do dia seguinte. Foi realizado lavado vaginal consistindo na injeção de 60 microlitros de solução salina, com a ajuda de uma pipeta, próximo ao

canal vaginal da rata, retirando o material com esta mesma pipeta. O líquido foi colocado em lâmina de vidro e observado ao microscópio óptico onde foi verificada a presença de espermatozoides e de células relacionadas à fase estral do ciclo da fêmea (caracterizada como fase estrogênica máxima) para confirmação do diagnóstico de prenhez (dia zero de gestação). Após a confirmação, as fêmeas foram separadas individualmente para controle de ração e água. As fêmeas não prenhes foram reutilizadas no processo de cruzamento.

4.3.2 Tratamento

A avaliação do desempenho reprodutivo materno e morfologia de sua prole foi realizada em 4 grupos com 8 fêmeas prenhes cada, tratadas no 2.º dia gestacional (GD 2), e 4 grupos com 9 fêmeas prenhes cada, tratadas no 10.º dia gestacional (GD 10) divididos da seguinte forma:

- a) Grupo controle: Recebeu injeção subcutânea de solução salina 0,9% e duas injeções intraperitoneal de solução salina 0,9% (15 minutos entre doses) 60 minutos após a aplicação subcutânea;
- b) Grupo veneno: Recebeu injeção subcutânea de veneno (4,0 mg/kg) e duas injeções intraperitoneal de solução salina 0,9% (15 minutos entre doses) 60 minutos após aplicação subcutânea;
- c) Grupo antiveneno: Recebeu injeção subcutânea de solução salina 0,9% e duas injeções intraperitoneal de soro antiescorpiônico (0,2ml cada, 15 minutos entre doses) 60 minutos após aplicação subcutânea;

d) Grupo veneno + antiveneno: recebeu injeção subcutânea de veneno (4,0 mg/kg) e duas injeções intraperitoneal de soro antiescorpiônico (0,2ml cada, 15 minutos entre doses) 60 minutos após aplicação subcutânea.

O GD2 foi escolhido por corresponder ao início do período de implantação do blastocisto no útero, durante o qual qualquer substância nociva pode levar à embriofetalidade. O GD10 foi escolhido por corresponder ao meio do período de organogênese, que consiste em uma série de processos definidos sequencialmente e na formação dos órgãos propriamente dita.

4.3.3 Avaliação da toxicidade materna

A análise da toxicidade materna foi realizada por meio do acompanhamento do ganho de massa das mães durante o período gestacional, assim como o consumo de água e ração. As fêmeas prenhes foram pesadas no dia 0, 5, 10, 16 e 21 da gestação para evolução ponderal materna. A cada três dias foi realizada a avaliação do consumo de água e ração. Essas mesmas fêmeas foram utilizadas para a avaliação do desempenho reprodutivo materno.

4.3.4 Laparotomia e avaliação do desempenho reprodutivo materno

No vigésimo primeiro dia de gestação, as ratas foram submetidas à laparotomia. Para isso, os animais foram eutanasiados com sobredoses de quetamina e xilazina e imediatamente os cornos uterinos foram expostos e os filhotes retirados com suas placentas. Os filhotes foram contados, pesados e analisados externamente quanto à sua aparência geral. Foi verificada a presença ou não de reabsorções e pontos de

implantação no útero. Os corpos lúteos presentes em cada ovário foram contados para avaliação da quantidade de óvulos eliminados. As perdas pré e pós-implantações foram calculadas, respectivamente, seguindo as fórmulas abaixo:

$$\text{PERDAS PRÉ-IMPLANTAÇÃO: } \frac{n^{\circ} \text{ de corpos lúteos} - n^{\circ} \text{ de implantações}}{n^{\circ} \text{ de corpos lúteos}}$$

$$\text{PERDAS PÓS-IMPLANTAÇÃO: } \frac{n^{\circ} \text{ de implantações} - n^{\circ} \text{ de fetos vivos}}{n^{\circ} \text{ de implantações}}$$

4.3.5 Preparação dos filhotes

Após o processo descrito anteriormente, cada ninhada foi dividida aleatoriamente em dois grupos distintos para análise de possíveis malformações esqueléticas (4.3.5.1) ou malformações viscerais macroscópicas (4.3.5.2).

4.3.5.1 Diafanização e análise esquelética

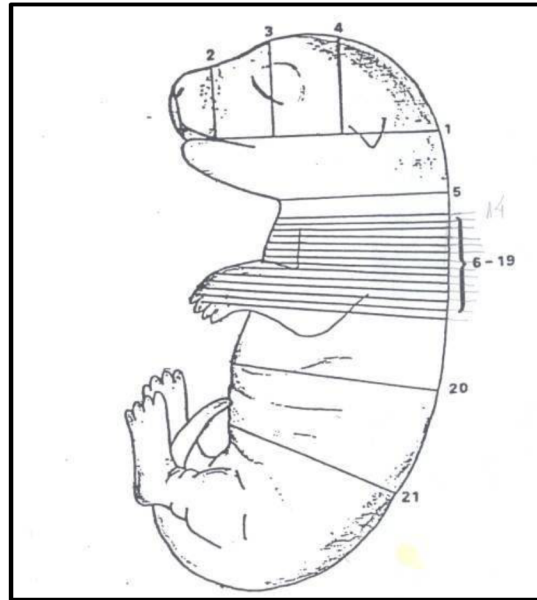
Para preparação dos filhotes utilizou-se o procedimento proposto por Staples e Schenel (1964). Baseado neste método, os corpos dos filhotes foram mergulhados em acetona e após 24h eviscerados. Os rins, fígado, pulmões e coração foram pesados e suas massas relativas calculadas. A acetona foi substituída por solução de KOH a 0,8% em quantidade suficiente para cobrir os filhotes e nesta foram adicionadas 8 gotas de solução saturada de alizarina. Esta solução foi trocada quatro vezes com intervalos de no mínimo 24 horas entre trocas. Em seguida a solução foi substituída pela solução clareadora (álcool etílico, glicerina e álcool benzílico P.A.). As análises foram baseadas na contagem dos pontos de ossificação como proposto por Aliverti *et al.* (1979) o qual

determina o grau de desenvolvimento fetal, e no roteiro proposto por Taylor (1986) para observação de parâmetros como anomalias e/ou malformações nos ossos cranianos (frontal, parietal, interparietal e occipital), esterno, vértebras (cervicais, torácicas, lombares, sacrais e caudais), costelas, bacia, clavícula e extremidades (metacarpos, metatarsos e falanges).

4.3.5.2 Fixação e análise visceral

Os corpos dos filhotes foram colocados em solução de Bouin para fixação das estruturas viscerais e descalcificação dos ossos. Após quatro dias essa solução foi substituída por álcool 80%, sendo em seguida substituída por álcool 90% após dois dias. A análise das vísceras foi realizada conforme o método proposto por Wilson (1965) que consiste em fixar os corpos e seccioná-los transversalmente com lâminas afiadas, em fatias de aproximadamente 1 mm cada, de maneira que seja possível a visualização das seguintes estruturas quanto a possíveis malformações e/ou anomalias viscerais: palato, ouvido interno, medula, cavidade nasal, septo nasal, retina, córnea, cristalino, hemisfério cerebral, ventrículos cerebrais, glândula salivar, tireoide, esôfago, traqueia, timo, coração, fígado, rins, bexiga, ureter e gônadas (Figura 2).

Figura 2 - Esquema da posição dos cortes para análise visceral



Fonte: Wilson, 1965

4.3.6 Análise histológica da placenta

As placentas foram coletadas do grupo GD10 (5 placentas por fêmea) e submersas em solução de formol 10%. Após 24 horas as placentas foram cortadas ao meio utilizando uma lâmina de micrótomo, seguido de bateria de desidratação e emblocamento conforme protocolo (tabela 1):

Tabela 1: Procedimento de desidratação e emblocamento de tecido

PROCEDIMENTO	ORDEM	SUBSTÂNCIA	TEMPO
Desidratar	1°	Álcool Absoluto I	40 minutos (por substância)
	2°	Álcool Absoluto II	
	3°	Álcool 95% I	
	4°	Álcool 95% II	
	5°	Xilol I	
	6°	Xilol II	
Emblocar	7°	Parafina I	
	8°	Parafina II	

Fonte: Adaptado de BOLON, 2014

Após emblocamento, foi realizado o corte do tecido em micrótomo, com espessura de 5 micras. Os cortes foram colocados em banho maria com gelatina e, em seguida, dispostos em lâminas (6 cortes por placenta). Lâminas obtidas foram submetidas a bateria para retirar a parafina dos cortes e corá-los com Hematoxilina + Eosina seguindo protocolo (tabela 2):

Tabela 2: Procedimento de desparafinação e coloração de tecido

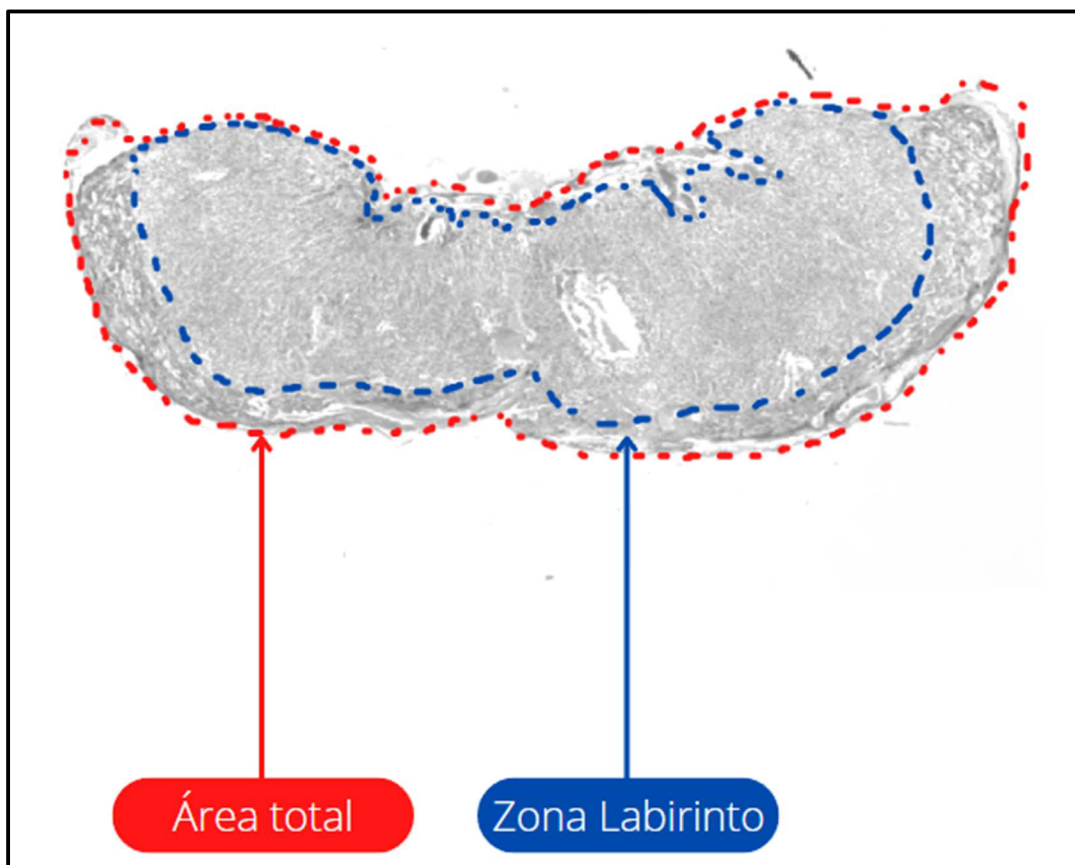
PROCEDIMENTO	ORDEM	SUBSTÂNCIA	TEMPO
Retirar parafina	1°	Xilol I	15 minutos
	2°	Xilol II	15 minutos
	3°	Álcool 70%	5 minutos
	4°	Álcool Absoluto	5 minutos
Corar	5°	Hematoxilina	5 minutos
	6°	Água corrente	Rapidamente
	7°	Diferenciador	Rapidamente
	8°	Água corrente	10 minutos
	9°	Eosina	1 minuto
	10°	Álcool Absoluto	2 minutos
	11°	Álcool 95%	3 minutos
	12°	Xilol I	3 minutos
	13°	Xilol II	3 minutos
	14°	Xilol III	3 minutos

Fonte: Adaptado de BOLON, 2014

Após bateria, as lâminas foram montadas utilizando uma camada de Entellan sobre os cortes corados, sendo coberto por lamínula. Por fim, os cortes foram analisados em microscópio para diferenciação de estruturas e digitalização dos cortes para cálculo

de área relativa da zona labirinto sobre a área total da placenta (figura 3) por meio do software imageJ (versão 1.53t).

Figura 3 - Corte da placenta de GD10



Fonte: Próprio autor, 2022.

Legenda: A figura mostra o corte da placenta pertencente a fêmea do grupo GD10, delimitando a área total da placenta em vermelho e a área da zona labirinto em azul.

4.3.7 Análise estatística dos resultados

Os dados de ganho de massa materno e consumo de água e ração foram analisados por ANOVA de duas vias seguida por teste de Tukey-Kramer. Dados de desempenho reprodutivo materno como número de implantes, número de corpos lúteos, reabsorções, fetos vivos e mortos, perdas pré e pós-implantação foram analisados por ANOVA de uma via seguida de teste de Tukey-Kramer. Dados de análise visceral e esquelética foram analisados por teste de Fisher. Por fim, dados da massa de filhotes, massa relativa de órgãos e área relativa da zona labirinto placentária foram analisados por ANOVA de uma via seguida de teste de Tukey-Kramer. Em todos os casos, os resultados foram considerados significantes quando $P < 0,05$. Utilizou-se GraphPad Prism 9.0 para análise estatística.

5. RESULTADOS

5.1 Grupo GD2

5.1.1 Performance reprodutiva

Não houve mudanças significativas nos parâmetros reprodutivos (reabsorções, implantações, corpos lúteos, fetos vivos ou mortos, massa do útero e perdas pré/pós implantação) em nenhum dos grupos analisados (tabela 3).

Tabela 3 - Parâmetros reprodutivos de ratas prenhes em GD2.

Parâmetros	Salina (n=8)	Antiveneno (n=8)	Veneno (n=8)	Veneno + Antiveneno (n=8)
Reabsorções/ninhada	1 ± 1	0,6 ± 1	0,6 ± 1	1 ± 2
Implantações/ninhada	12 ± 2	14 ± 1	13 ± 3	13 ± 3
Corpos lúteos/ninhada	12 ± 2	14 ± 2	12 ± 5	13 ± 2
Fetos vivos/ninhada	11 ± 3	13 ± 2	12 ± 3	12 ± 3
Fetos mortos/ninhada	0	0	0	0
Massa do útero (g)	85 ± 17	102 ± 17	97 ± 23	90 ± 23
Perdas pré-implantação/ninhada	0,06 ± 0,1	0,02 ± 0,05	0,08 ± 0,2	0,05 ± 0,1
Perdas pós-implantação/ninhada	0,07 ± 0,1	0,05 ± 0,09	0,05 ± 0,08	0,07 ± 0,1

Fonte: Próprio autor, 2022

Os dados foram expressos como média ± DP. ANOVA de uma via seguido por Tukey Kramer. n= número de ninhadas

5.1.2 Efeitos maternos

A massa das fêmeas ao decorrer da gestação não apresentou diferenças significantes entre os grupos (tabela 3). Em contrapartida, a ingestão de água do grupo veneno na primeira e terceira semana de gestação e do grupo antiveneno e veneno + antiveneno na terceira semana de gestação apresentou-se significativamente aumentada em relação ao grupo salina (tabela 4).

Tabela 3 - Variação de massa de fêmeas tratadas no GD2

Parâmetro	Dia gestacional	Salina (n=8)	Veneno (n=8)	Antiveneno (n=8)	Veneno + Antiveneno (n=8)
Massa da fêmea (g)	Dia 0	278 ± 18,3	291 ± 18,5	278,5 ± 24	292,1 ± 44,4
	Dia 5	292,4 ± 19,9	303,2 ± 20,1	297,2 ± 21,6	306,2 ± 46,7
	Dia 10	308,9 ± 20,7	328,9 ± 25,3	308,4 ± 20,8	327,6 ± 47
	Dia 16	343,2 ± 30,3	358 ± 30,6	355 ± 34,6	357,4 ± 50
	Dia 21	397,6 ± 30,8	426 ± 45,3	417,4 ± 42,6	418,7 ± 63,9

Fonte: Próprio autor, 2022

Os dados foram expressos como média ± DP. ANOVA de duas vias seguido por Tukey-Kramer. n = número de fêmeas

Tabela 4 - Consumo de água e ração de fêmeas tratadas no GD2

Parâmetro	Semana gestacional	Salina (n=8)	Veneno (n=8)	Antiveneno (n=8)	Veneno + Antiveneno (n=8)
Ingestão de água (mL/dia)	Semana 1	19,9 ± 9,2	32,6 ± 8,1*	28,3 ± 10,7	36,3 ± 18,3
	Semana 2	33,4 ± 5,3	44,9 ± 9,6	42,6 ± 8,3	48,5 ± 17,4
	Semana 3	39,2 ± 12,1	64,3 ± 16,3*	55,7 ± 6,4*	64,7 ± 14,4*
Ingestão de ração (g/dia)	Semana 1	15,5 ± 4,7	15,7 ± 3,2	12,9 ± 6,8	16,3 ± 4,8
	Semana 2	18 ± 7,3	26,1 ± 7,3	23,7 ± 5,2	24,8 ± 3,1
	Semana 3	25,1 ± 7,1	31,8 ± 9,3	29 ± 2,6	30 ± 8,5

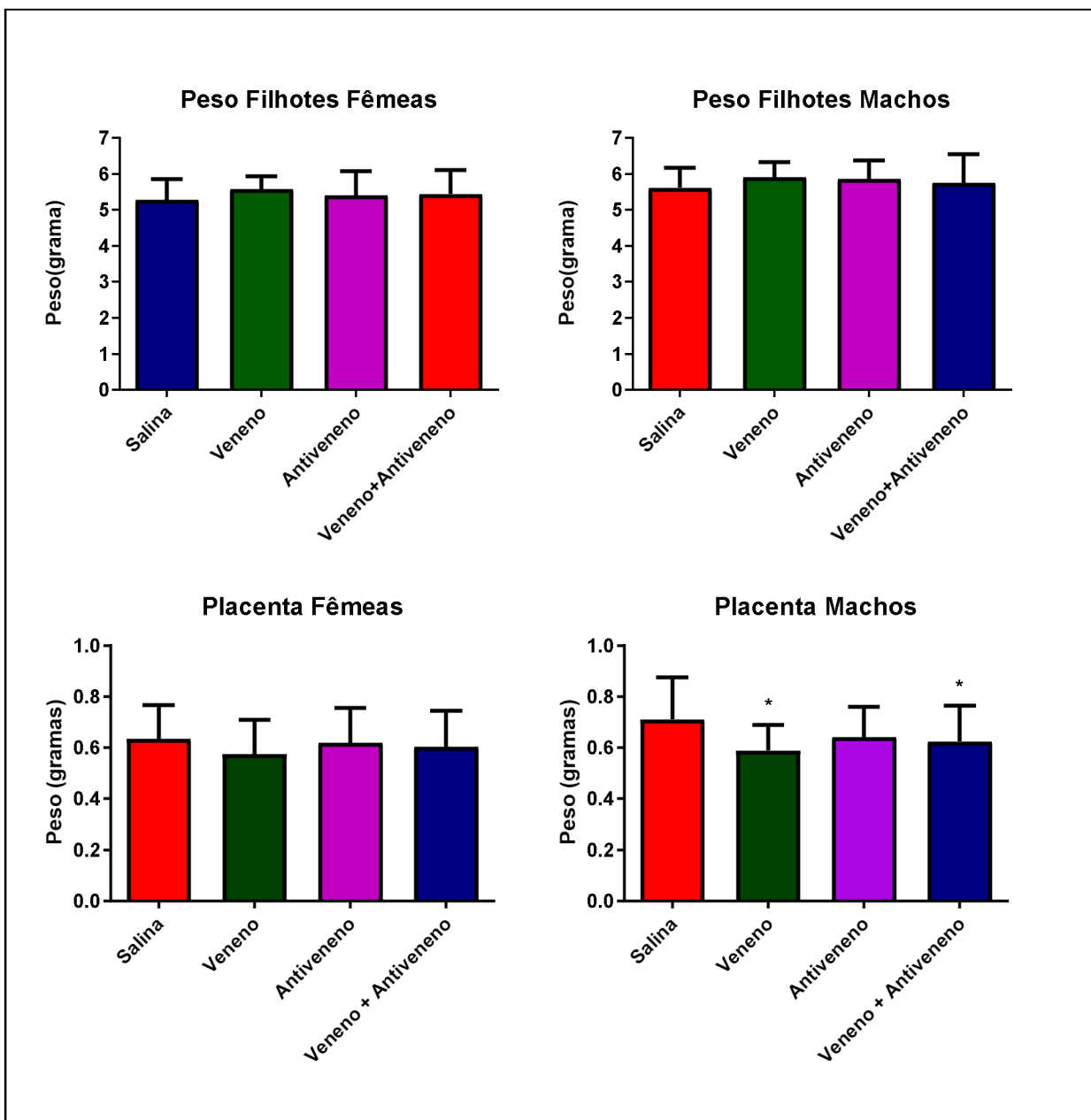
Fonte: Próprio autor, 2022

Os dados foram expressos como média ± DP. ANOVA de duas vias seguido por Tukey-Kramer. * < 0,05 em relação ao grupo salina. n = número de fêmeas

5.1.3 Efeitos morfológicos na prole

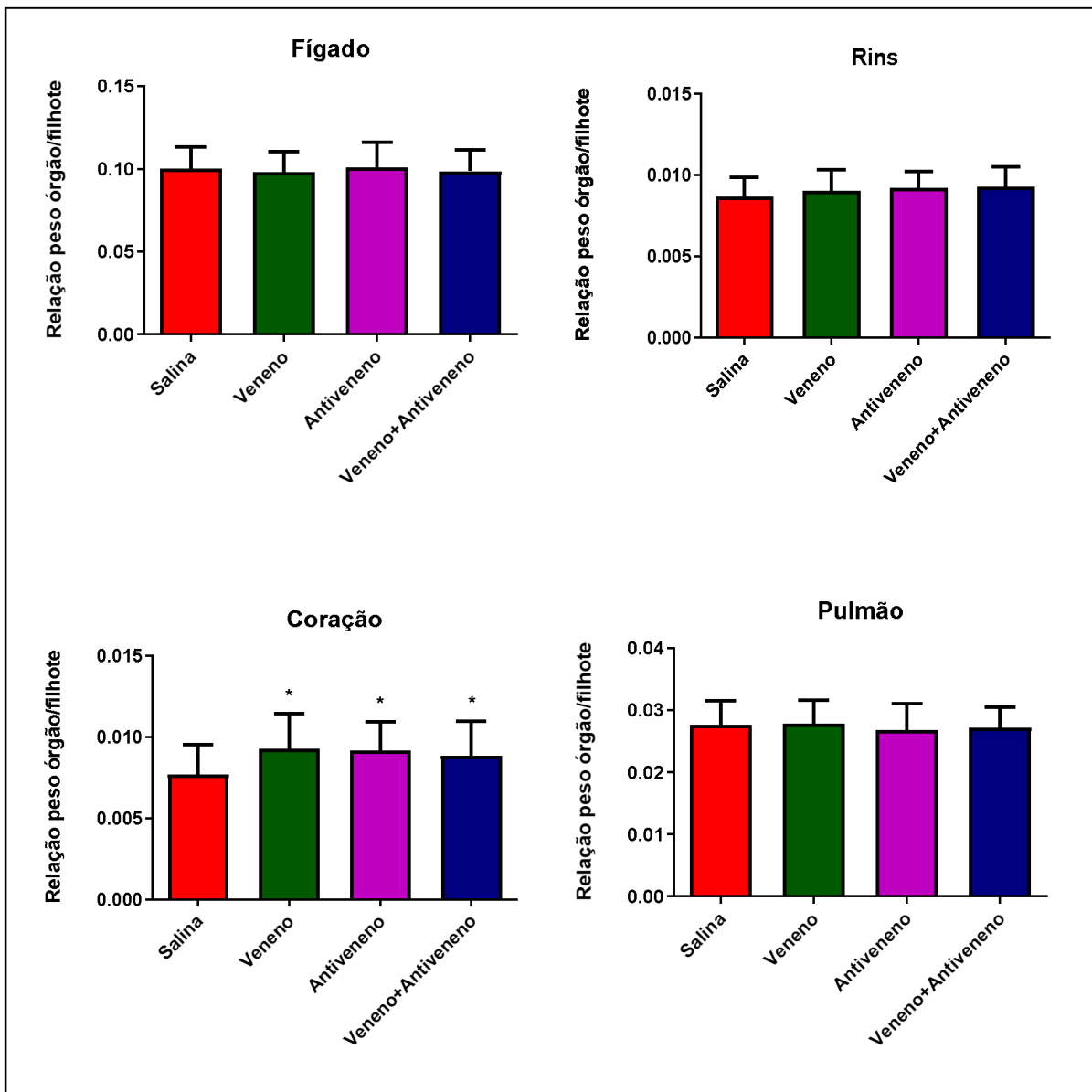
Filhotes do grupo GD2 não apresentaram mudanças de suas massas em nenhum dos grupos estudados, porém a placenta relativa a filhotes machos do grupo veneno e do grupo veneno + antiveneno apresentou massa relativamente baixa em relação ao grupo salina (figura 4). Em contrapartida a massa do coração do grupo veneno, antiveneno e veneno + antiveneno apresentou massa elevada em relação ao grupo salina (Figura 5). Malformações esqueléticas ou viscerais também não foram observadas em nenhum dos grupos (tabela 5).

Figura 4 - Massa de filhotes de GD2 e suas placentas.



Fonte: próprio autor, 2022

ANOVA de uma via seguido por Tukey Kramer. * < 0,05 em relação ao grupo salina. Dados representados como média \pm DP da média.

Figura 5 - Massa relativa dos órgãos de filhotes de GD2.

Fonte: Próprio autor, 2022

ANOVA de uma via seguido por Tukey Kramer. * < 0,05 em relação ao grupo salina. Dados representados como média \pm DP da média.

Tabela 5 - Tabela de malformações e anomalias nos filhotes de GD2

Parâmetro	Salina	Veneno	Antiveneno	Veneno + Antiveneno
Anomalias externas				
Número de fetos afetados	0/85	0/96	0/104	0/94
Número de ninhadas afetadas	0/8	0/8	0/8	0/8
Malformações externas				
Número de fetos afetados	0/85	0/96	0/104	0/94
Número de ninhadas afetadas	0/8	0/8	0/8	0/8
Malformações esqueléticas				
Número de fetos afetados	0/43	0/48	0/52	0/47
Número de ninhadas afetadas	0/8	0/8	0/8	0/8
Anomalias esqueléticas				
Número de fetos afetados	0/43	0/48	0/52	0/47
Número de ninhadas afetadas	0/8	0/8	0/8	0/
Deformidade no osso interparietal	0/43	0/48	0/52	0/47
Costelas fundidas	0/43	0/48	0/52	0/47
Vertebras compartilhadas	0/43	0/48	0/52	0/47
Costela rudimentar	0/43	0/48	0/52	0/47
Malformações viscerais				
Número de fetos afetados	0/42	0/48	0/52	0/47
Número de ninhadas afetadas	0/8	0/8	0/8	0/8
Anomalias viscerais				
Número de fetos afetados	0/42	0/48	0/52	0/47
Número de ninhadas afetadas	0/8	0/8	0/8	0/8

Fonte: Próprio autor, 2022

Teste de Fisher.

5.2 Grupo GD10

5.2.1 Performance reprodutiva

Não houve mudanças significativas nos parâmetros reprodutivos (reabsorções, implantações, corpos lúteos, fetos vivos ou mortos, massa do útero e perdas pré/pós implantação) em nenhum dos grupos analisados (tabela 6).

Tabela 6 - Parâmetros reprodutivos de ratas prenhes em GD10

Parâmetro	Salina (n=9)	Antiveneno (n=9)	Veneno (n=9)	Veneno+Antiveneno (n=9)
Reabsorções/ninhada	0,6 ± 1,2	0,7 ± 1	1 ± 0,7	0,4 ± 0,7
Implantações/ninhada	11 ± 4	11 ± 5	12 ± 2	12 ± 2
Corpos lúteos/ninhada	14 ± 2	13 ± 2	16 ± 6	14 ± 1
Fetos vivos/ninhada	11 ± 3	11 ± 4	12 ± 2	11 ± 3
Fetos mortos/ninhada	0	0	0	0
massa do útero (g)	82 ± 22	80 ± 21	82 ± 12	90 ± 18
Perdas pré-implantação/ninhada	0,2 ± 0,24	0,2 ± 0,3	0,2 ± 0,2	0,1 ± 0,2
Perdas pós-implantação/ninhada	0,06 ± 0,08	0,04 ± 0,06	0,07 ± 0,06	0,03 ± 0,07

Fonte: Próprio autor, 2022

Os dados foram expressos como média ± DP. ANOVA de uma via seguido por Tukey-Kramer. n= número de ninhadas.

5.2.2 Efeitos maternos

A massa das fêmeas ao decorrer da gestação não apresentou mudanças significativas entre os grupos (tabela 7). Em contrapartida, o consumo de água nos grupos veneno e veneno + antiveneno apresentou aumento durante a segunda semana de gestação (tabela 8).

Tabela 7 - Variação de massa de fêmeas tratadas no GD10

Parâmetro	Dia gestacional	Salina (n=9)	Veneno (n=9)	Antiveneno (n=9)	Veneno + Antiveneno (n=9)
Massa da fêmea (g)	Dia 0	284,8 ± 21,7	278 ± 26,5	303,9 ± 19,7	284,8 ± 31,7
	Dia 5	297,4 ± 21,1	297,3 ± 29,2	316,6 ± 19,4	297,1 ± 31,1
	Dia 10	311,8 ± 23,4	310,9 ± 23,9	330,6 ± 17,7	311,4 ± 30,6
	Dia 16	346,3 ± 20,8	352 ± 31,1	364 ± 24,5	344 ± 23,5
	Dia 21	396,4 ± 34,7	400 ± 45,8	424,4 ± 19	407,3 ± 36,6

Fonte: Próprio autor, 2022

Os dados foram expressos como média ± DP. ANOVA de duas vias seguido por Tukey-Kramer. n = número de fêmeas

Tabela 8 - Consumo de água e comida de fêmeas tratadas no GD10

Parâmetro	Semana gestacional	Salina (n=8)	Veneno (n=9)	Antiveneno (n=8)	Veneno + Antiveneno (n=9)
Ingestão de água (mL/dia)	Semana 1	35,6 ± 6,3	32,6 ± 4,1	32,4 ± 9,8	32 ± 5,6
	Semana 2	36,6 ± 6,5	45,4 ± 6*	44,2 ± 7,7	47,5 ± 8,1*
	Semana 3	49 ± 4,5	56,3 ± 10,7	59,4 ± 13,2	5,9 ± 8,6
Ingestão de comida (g/dia)	Semana 1	19,6 ± 4,4	17,2 ± 3,9	17,4 ± 3,7	17,3 ± 2
	Semana 2	22,7 ± 2,7	23,5 ± 2,2	23,7 ± 2,9	23,7 ± 2,8
	Semana 3	26,7 ± 3,7	26,5 ± 2,9	25,9 ± 6,3	26,1 ± 5,1

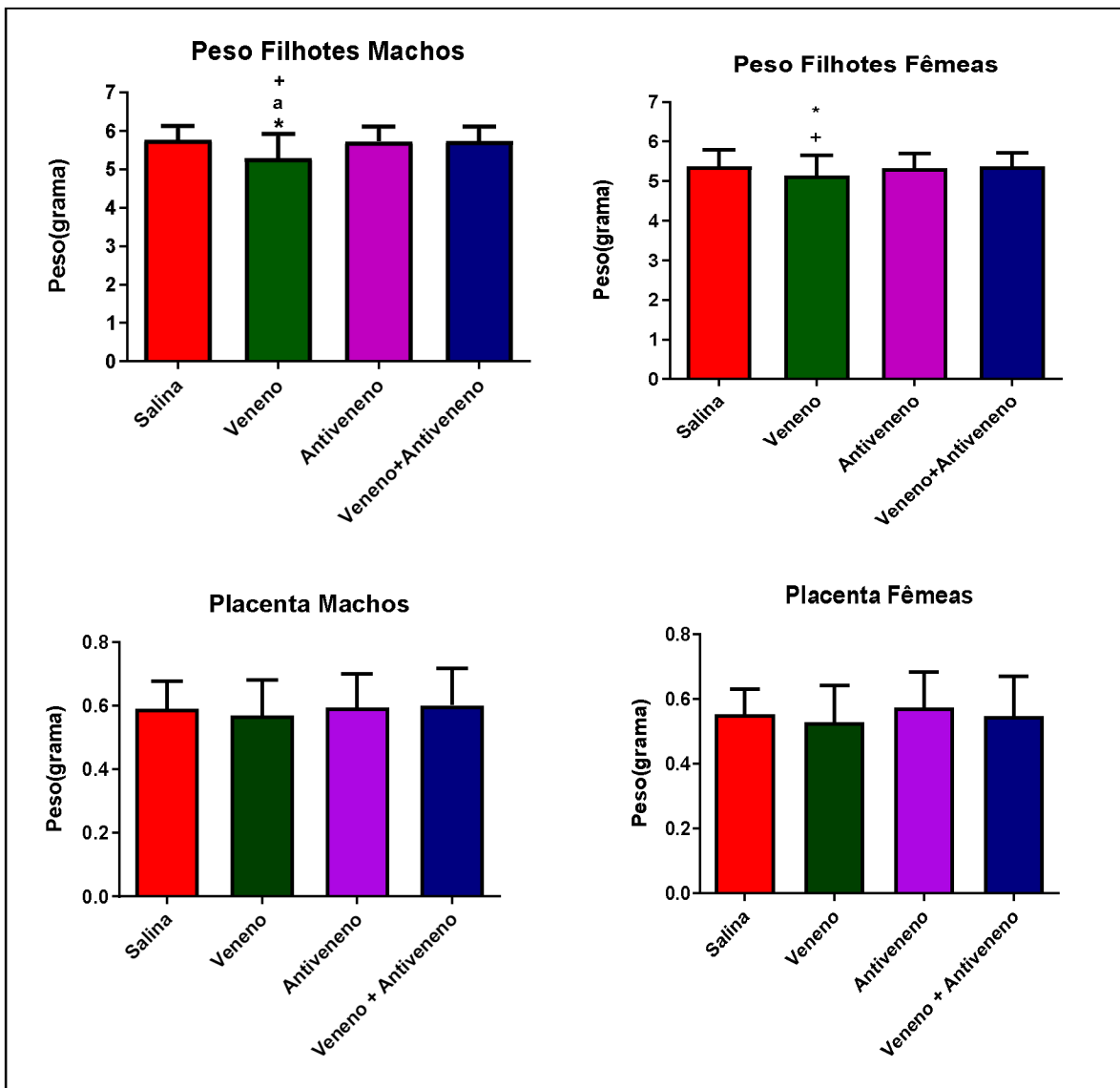
Fonte: Próprio autor, 2022

Os dados foram expressos como média ± DP. ANOVA de duas vias seguido por Tukey-Kramer. * < 0,05 em relação ao grupo salina. n = número de fêmeas

5.2.3 Efeitos morfológicos na prole

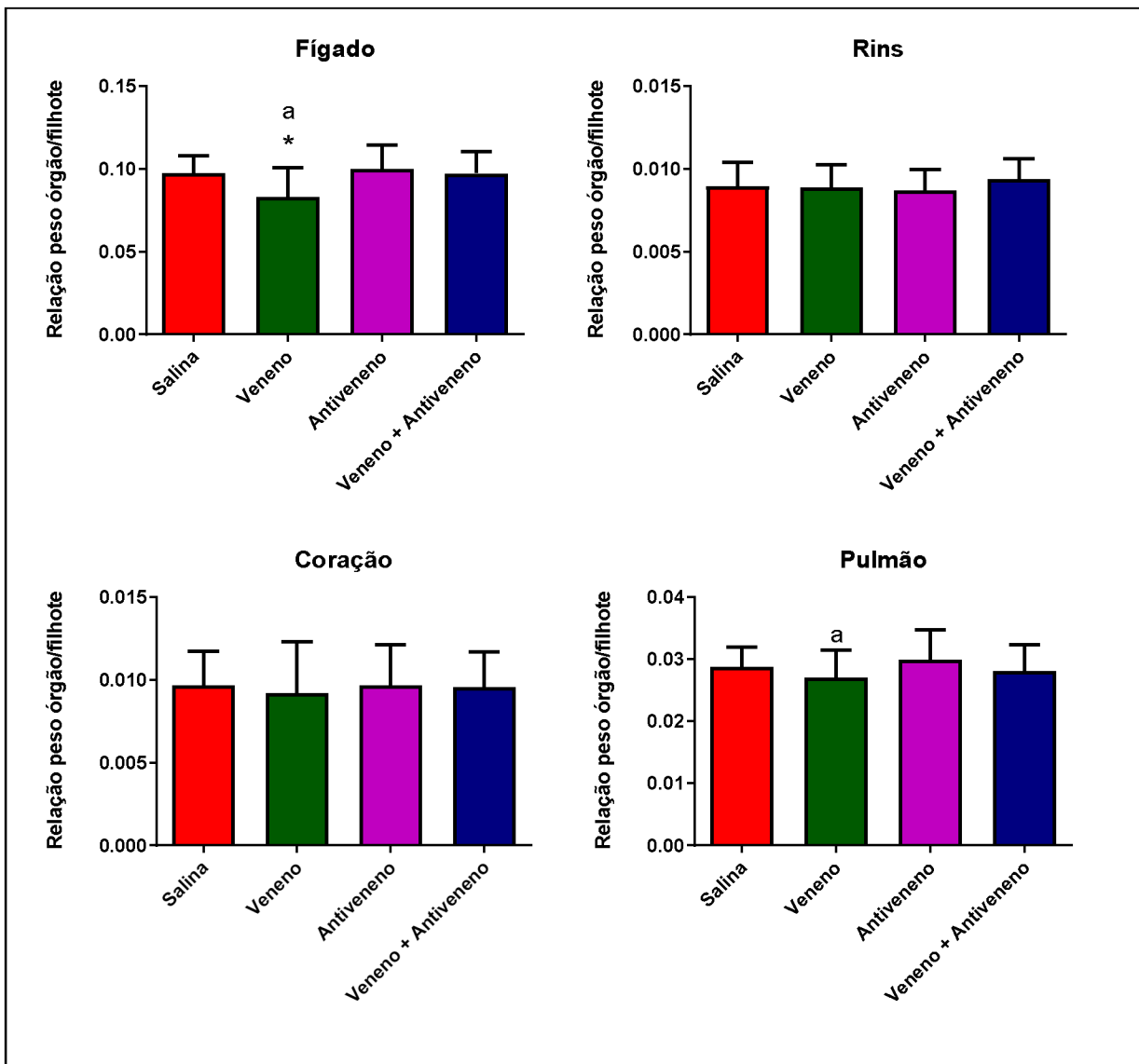
Filhotes machos e fêmeas do grupo veneno apresentaram massa reduzida em relação aos demais grupos (figura 6). A massa das placentas não apresentou alterações em nenhum dos grupos (figura 6). A massa relativa do fígado e pulmão dos filhotes do grupo veneno apresentou-se diminuída em relação ao grupo salina e antiveneno (figura 7). Malformações esqueléticas não foram observadas em nenhum dos grupos (tabela 9), salvo no grupo antiveneno (2 filhotes) e no grupo veneno + antiveneno (1 filhote) que apresentaram décima quarta costela. Malformações viscerais também não foram observadas em nenhum dos grupos (tabela 9), salvo um único filhote do grupo antiveneno que apresentou ausência de globos oculares (figura 8). Cortes das análises viscerais do grupo GD10 estão representados nas figuras 9-12.

Figura 6 – Massa de filhotes de GD10 e suas placentas.



Fonte: Próprio autor, 2022

ANOVA de uma via seguido por Tukey Kramer. a < 0,05 em relação ao grupo antiveneno; * < 0,05 em relação ao grupo salina; + < 0,05 em relação ao grupo veneno+antiveneno. Dados representados como média ± DP da média

Figura 7 - Massa relativa dos órgãos de filhotes de GD10

Fonte: Próprio autor, 2022

ANOVA de uma via seguido por Tukey Kramer. a < 0,05 em relação ao grupo antiveneno; * < 0,05 em relação ao grupo salina. Dados representados como média ± DP da média.

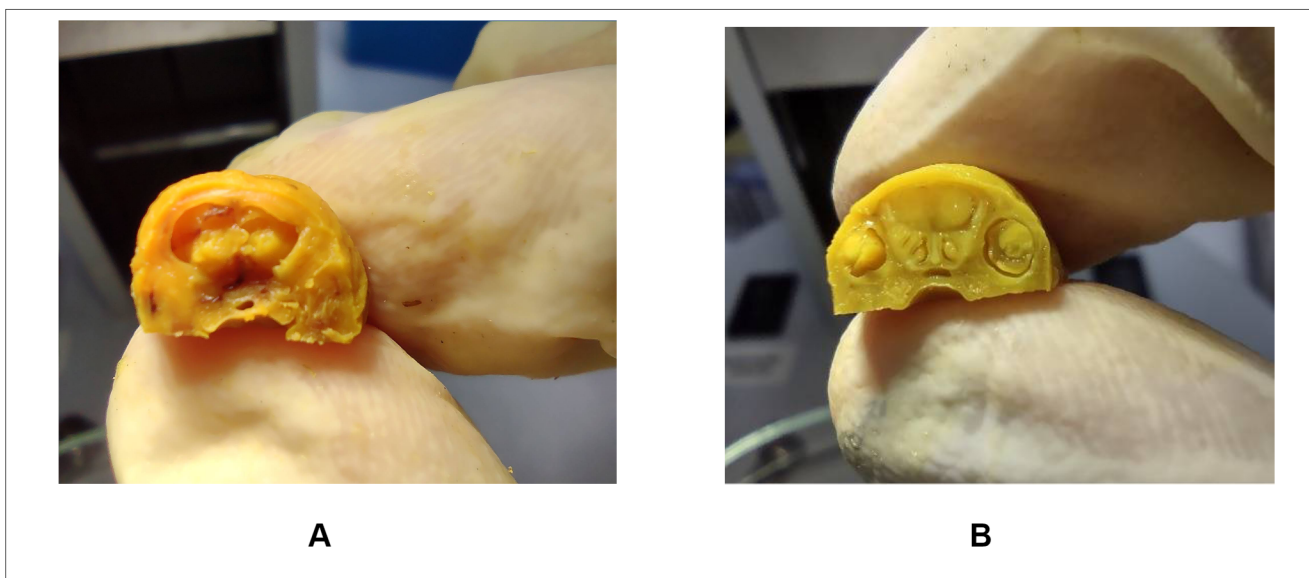
Tabela 9 - Tabela de malformações e anomalias nos filhotes de GD10

Parâmetro	Salina	Veneno	Antiveneno	Veneno + Antiveneno
Anomalias externas				
Número de fetos afetados	0/96	0/97	0/94	0/106
Número de ninhadas afetadas	0/9	0/9	0/9	0/9
Malformações externas				
Número de fetos afetados	0/96	0/97	0/94	0/106
Número de ninhadas afetadas	0/9	0/9	0/9	0/9
Malformações esqueléticas				
Número de fetos afetados	0/48	0/48	0/42	0/53
Número de ninhadas afetadas	0/9	0/9	0/9	0/9
Anomalias esqueléticas				
Número de fetos afetados	0/48	2/48	0/42	1/53
Número de ninhadas afetadas	0/9	2/9	0/9	1/9
Deformidade no osso interparental	0/48	0/48	0/42	0/53
Costelas fundidas	0/48	0/48	0/42	0/53
Vertebras compartilhadas	0/48	0/48	0/42	0/53
Costela rudimentar	0/48	2/48	0/42	1/53
Malformações viscerais				
Número de fetos afetados	0/48	1/49	0/42	0/53
Número de ninhadas afetadas	0/6	1/9	0/5	0/3
Anomalias viscerais				
Número de fetos afetados	0/48	0/49	0/42	0/53
Número de ninhadas afetadas	0/9	0/9	0/9	0/9

Fonte: Próprio autor, 2022

Teste de Fisher.

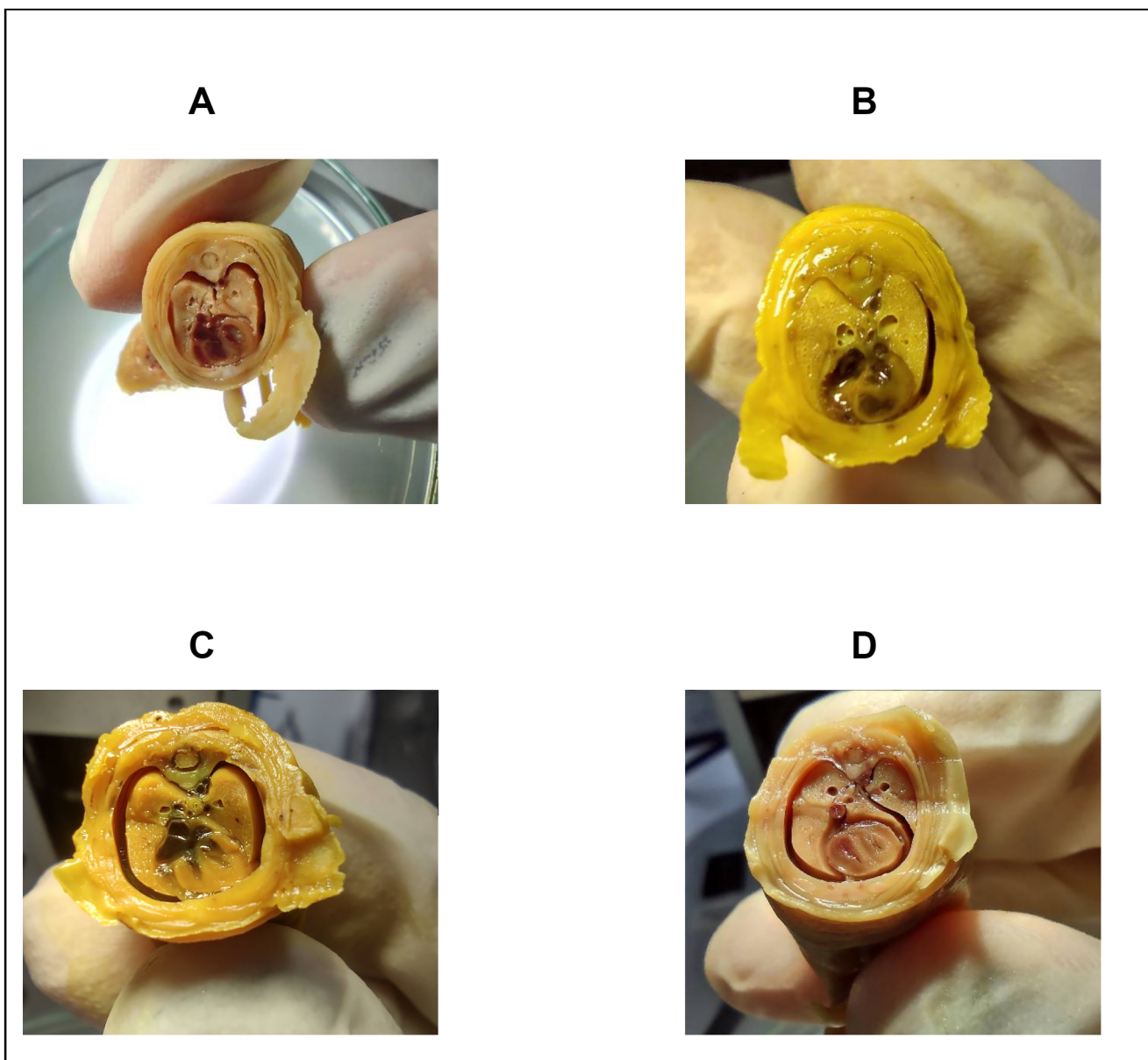
Figura 8 - Corte do globo ocular de filhote do grupo antiveneno apresentando malformação em comparação a um globo ocular saudável



Fonte: Próprio autor, 2022

(A): Globo ocular de filhote do grupo antiveneno; (B): Globo ocular saudável

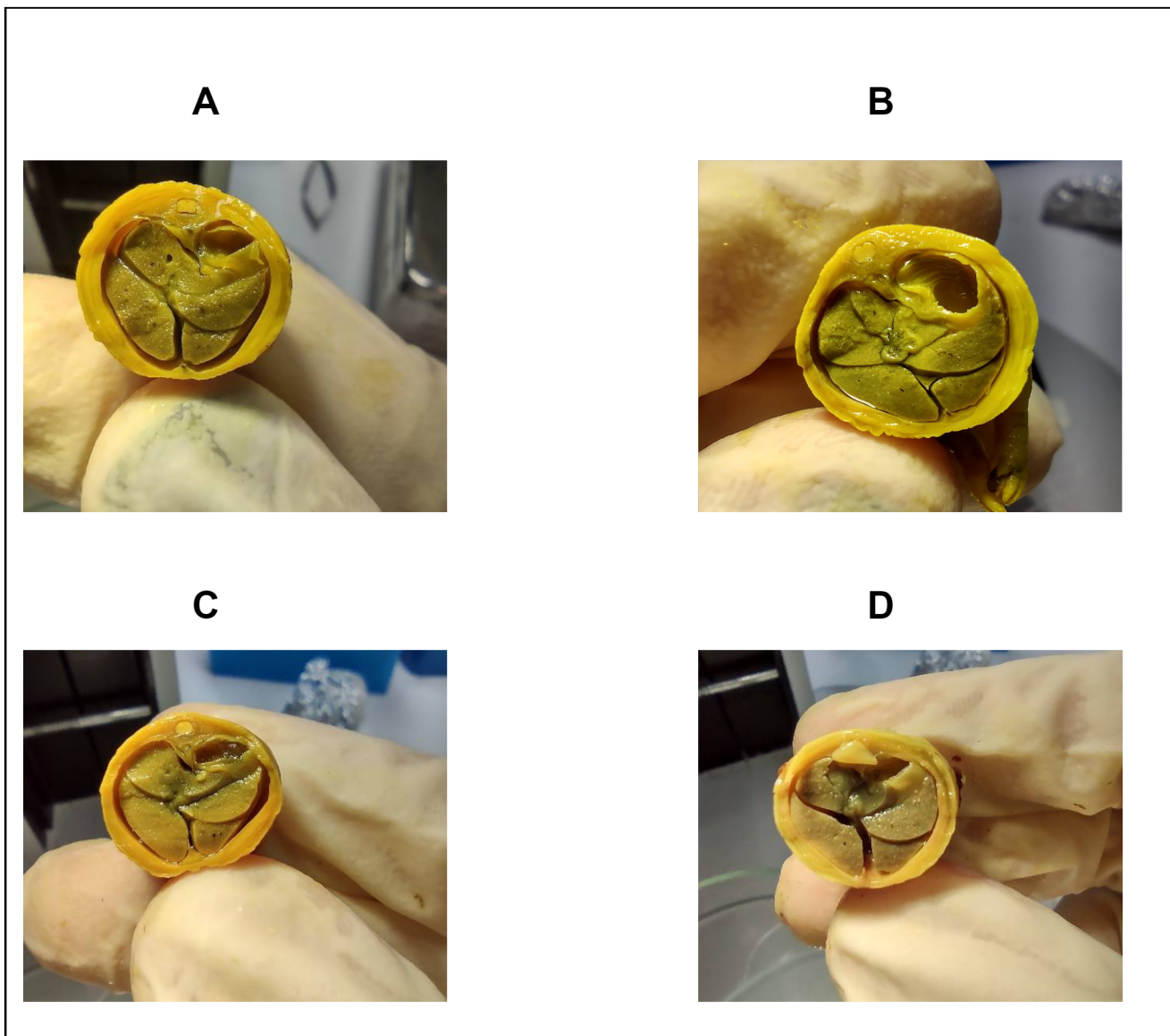
Figura 9 - Corte do coração e pulmão de filhotes do grupo GD10.



Fonte: Próprio autor, 2022

(A) Grupo Salina. **(B)** Grupo Veneno. **(C)** Grupo Antiveneno. **(D)** Grupo Veneno+Antiveneno

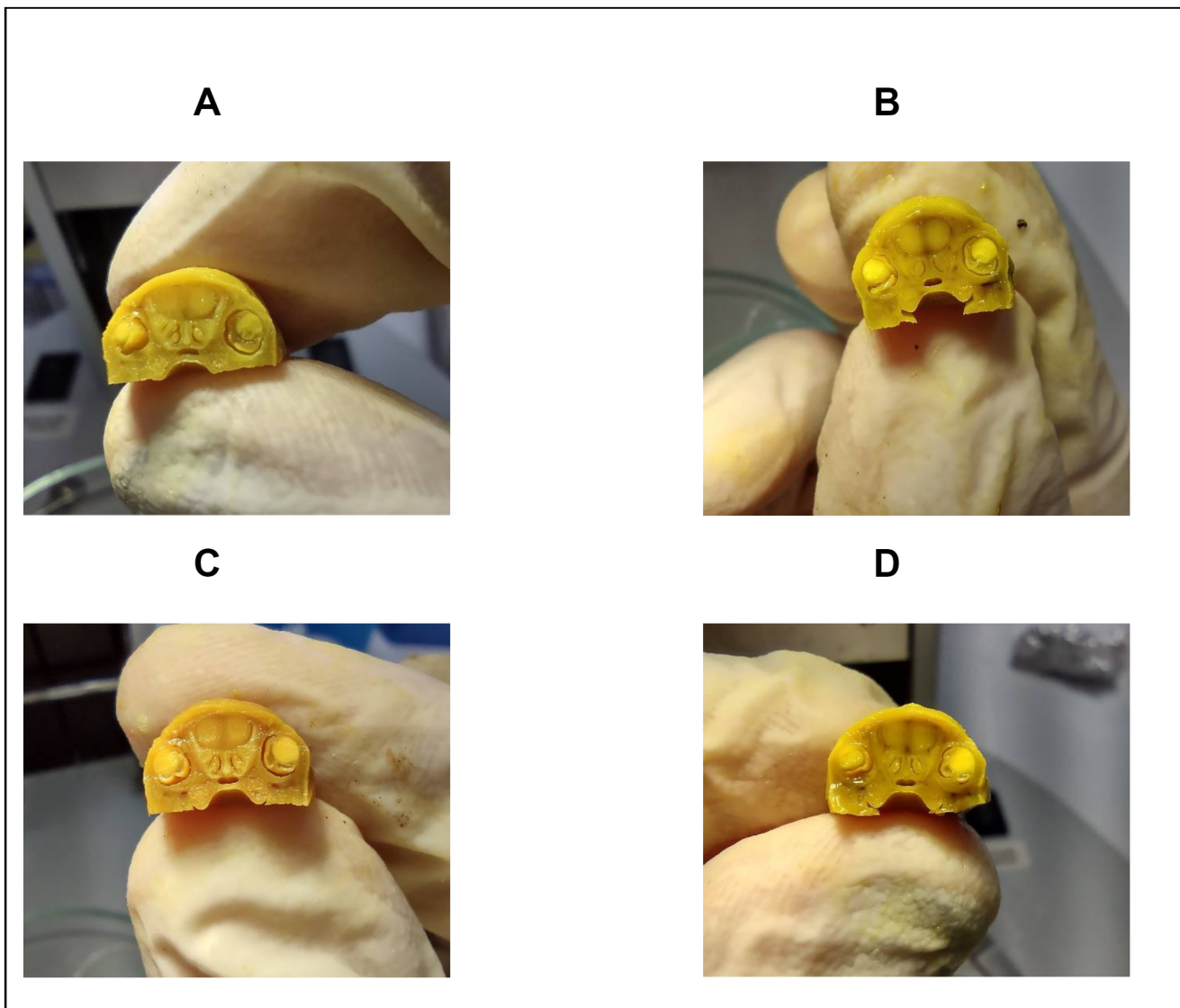
Figura 10 - Corte do fígado e bexiga de filhotes do grupo GD10



Fonte: Próprio autor, 2022

(A) Grupo Salina. **(B)** Grupo Veneno. **(C)** Grupo Antiveneno. **(D)** Grupo Veneno+Antiveneno.

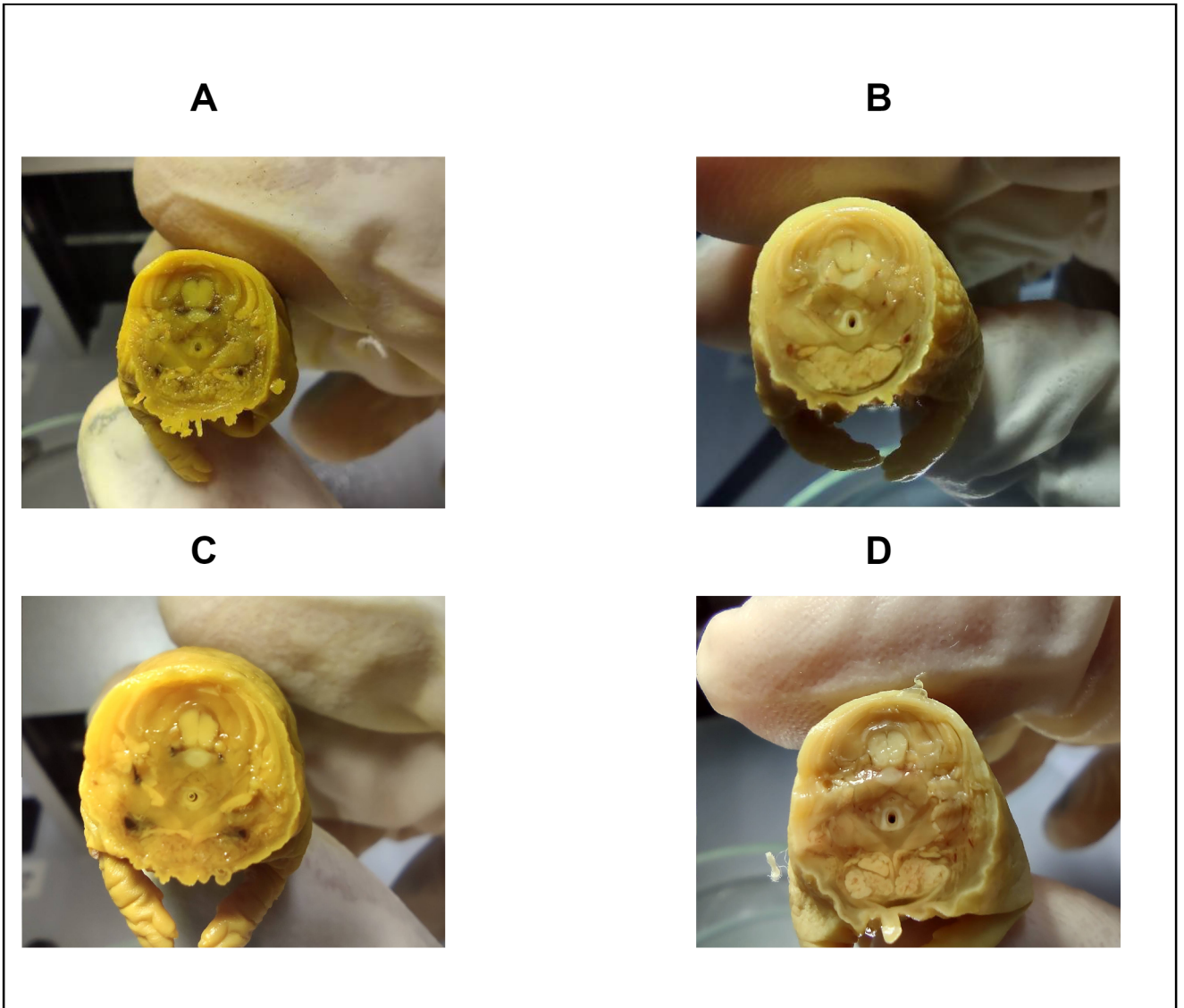
Figura 11 - Corte do globo ocular de filhotes do grupo GD10



Fonte: Próprio autor, 2022

(A) Grupo Salina. **(B)** Grupo Veneno. **(C)** Grupo Antiveneno. **(D)** Grupo Veneno+Antiveneno

Figura 12 - Corte da tireóide e traquéia de filhotes do grupo GD10



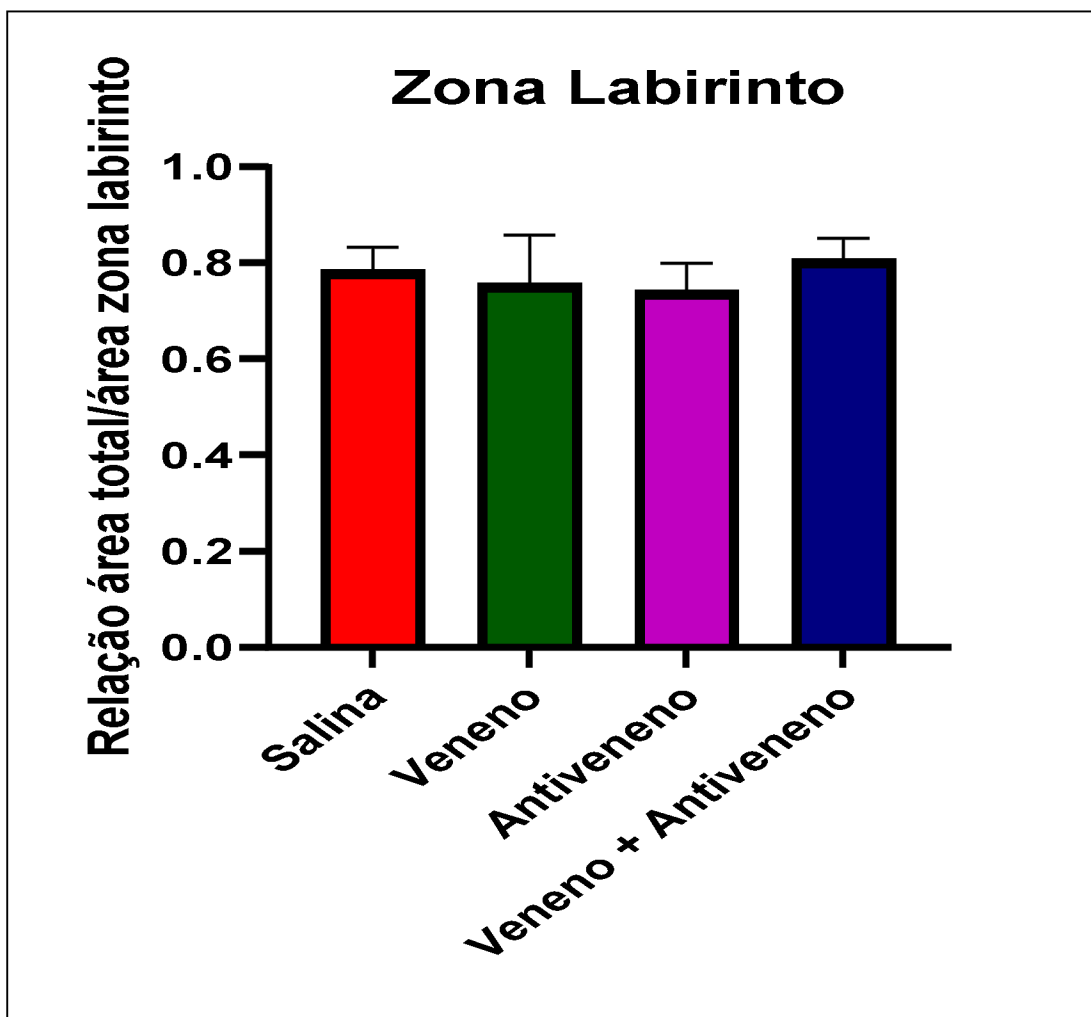
Fonte: Próprio autor, 2022

(A) Grupo Salina. **(B)** Grupo Veneno. **(C)** Grupo Antiveneno. **(D)** Grupo Veneno+Antiveneno.

5.2.4 Histologia da placenta

A relação da área da zona labirinto placentária pela área total da placenta não apresentou diferenças significativas entre os grupos estudados em GD10 (figura 13).

Figura 13 - Área relativa da zona labirinto de placentas de GD10



Fonte: Próprio autor, 2022

ANOVA de uma via seguido por Tukey Kramer.

6. DISCUSSÃO

O envenenamento por *Tityus serrulatus* é um problema de saúde pública no Brasil. Apesar dos diversos estudos sobre sua peçonha e seus efeitos nos indivíduos envenenados, são quase nulos os estudos de seus efeitos perinatais, carecendo de dados essenciais para uma melhor compreensão do perigo que ela pode causar em grávidas e seus bebês. O tratamento soroterápico é utilizado em todos os casos de envenenamentos moderados a graves, sendo eficaz para neutralizar o veneno circulante. Porém, devido à falta de estudos perinatais, não se sabe com clareza se este tratamento pode causar algum problema no desenvolvimento de fetos quando suas mães são tratadas com ele. Portanto, investigaram-se os efeitos da soroterapia escorpiônica na gravidez, visando verificar se o tratamento em si causa algum mal para o desenvolvimento pré-natal, e se ele pode reverter os problemas verificados pelo envenenamento na gravidez.

Para investigação dos efeitos, utilizaram-se dois grupos de ratas prenhes tratadas no segundo ou décimo dia de gestação, respectivamente, devido a peculiaridades importantes de cada dia. O dia gestacional 2 (GD2) é crucial no processo de implantação do blastocisto no útero (danos causados neste dia podem resultar em morte embrionária) (RUTLEDGE, 1997). O dia gestacional 10 (GD10) se encontra no meio do período da organogênese, ou seja, formação de órgãos e tecidos. Danos causados neste dia podem resultar em malformações, causando a morte do feto caso a malformação seja incompatível com a vida (MANSON e KANG, 1989).

Em ambos os grupos se utilizou uma dose de peçonha que causasse efeitos considerados moderados na fêmea (4 mg/kg), caracterizados por vocalização, piloereção, sialorreia, aumento da secreção ocular e dificuldade na respiração. Optou-se por observar efeitos moderados para poder afirmar com certeza de que a fêmea estava envenenada e com todos os sintomas típicos, porém evitando um quadro que evoluísse a óbito. Em relação ao tratamento soroterápico, foram utilizadas duas injeções de 0,2 ml com intervalo de 15 minutos entre as doses, cerca de uma hora após o tratamento do veneno, tempo necessário para que os sintomas apareçam de forma mais intensa. A

dose foi escolhida com base na dose padrão da soroterapia humana em um indivíduo de cerca de 60/70 kg (ver bula), extrapolando para a massa de uma rata de cerca de 300 gramas. Dividimos a dose em duas etapas devido à dificuldade de injetar doses elevadas de soro nas ratas via intraperitoneal, pois dores intensas são características do envenenamento escorpiônico, tornando a contenção uma tarefa delicada. Para tanto, separamos a dose de 0,4 ml em duas doses de menor volume, de modo que fosse possível injetar todo o conteúdo sem maiores complicações. O soro foi capaz de reverter os efeitos observados no envenenamento. Ao administrar o soro, ocorre uma nítida melhora do quadro em cerca de algumas horas. A rata torna-se mais ativa, aparentemente apresentando menos dor e desconforto, sua respiração volta à normalidade gradualmente e a salivação e lacrimejamento reduzem significativamente.

Apesar da reversão dos efeitos do envenenamento por meio da soroterapia, as ratas expostas à peçonha de *T. serrulatus*, tanto em GD2 quanto em GD10, apresentaram aumento na ingestão de água em comparação ao grupo controle. O envenenamento induz estresse nos animais, alterando comportamentos básicos, como o ato de se hidratar ou se alimentar (BERNATOVA *et al.*, 2002; KIM *et al.*, 2012). Além disso, as toxinas da peçonha de *T. serrulatus* provocam perda de líquidos por meio da hiperexcitação do sistema parassimpático, provocando sialorreia, incontinência urinária, diarreia e sudorese, aumentando a necessidade de ingestão hídrica (CHIPPAUX, 2012). A hiperglicemia resultante deste tipo de envenenamento também pode contribuir para o aumento da ingestão hídrica, uma vez que o aumento da concentração da glicose sanguínea provoca necessidade fisiológica de equilíbrio destes níveis por meio da água (CONNER *et al.*, 1970; MCKINLEY *et al.*, 2004; MATSUMOTO *et al.*, 2021).

Peçonhas escorpiônicas possuem capacidade de gerar alterações em parâmetros reprodutivos tanto experimentalmente quanto clinicamente. A exposição prolongada de ratas prenhes à peçonha do escorpião *Androctonus amorexi* resultou no aumento da reabsorção de filhotes em relação ao grupo controle (ISMAIL, ELLISON e TILMISANY, 1983). Além disso, a peçonha de escorpiões como *Buthus minax* e *Leiurus quinquestriatus* induziu aborto em grávidas em casos clínicos (OSMAN, ISMAIL e EL-ASMAR, 1972; ISMAIL e EL-ASMAR, 1973). No entanto, estes fenômenos não foram

observados em nenhum dos dois dias abordados neste estudo, tampouco em estudos realizados anteriormente (CRUTTENDEN *et al.*, 2008; DORCE, DORCE e NENCIONI, 2014). Peçonhas escorpiônicas podem variar conforme a espécie do escorpião e região em que habita, possibilitando efeitos diferentes observados em estudos utilizando peçonhas diferentes. Outro exemplo de efeitos distintos entre peçonhas de espécies diferentes são as malformações esqueléticas em filhotes de ratas expostas à peçonha de *A. amorexi* observadas por Ismail, Ellison e Tilmisany (1983), fenômeno não observado em nenhum dos dois dias abordados neste estudo. Vale destacar que o tratamento das fêmeas expostas à peçonha de *A. amorexi* foi realizado por períodos prolongados, com injeções diárias, diferente do utilizado neste estudo, podendo também ser um fator a mais que influi nas diferenças observadas entre os estudos.

Além de alterações evidenciadas em fêmeas prenhes expostas à peçonha de *T. serrulatus*, alterações no desenvolvimento pré-natal de seus filhotes também foram observadas. Em GD10, filhotes machos do grupo veneno apresentaram massa reduzida comparado aos demais grupos, enquanto fêmeas do mesmo grupo apresentaram massa reduzida somente em relação ao grupo salina e veneno + antiveneno. Além disso, a massa de placentas relativas a filhotes machos do grupo veneno e veneno + antiveneno de GD2 foi reduzido em relação ao grupo salina. Estes dados podem indicar diferenças na formação de filhotes machos e fêmeas, visto que machos foram afetados de forma mais evidente pela peçonha. De acordo com Seller e Perkins-Cole (1987), ratos machos possuem um desenvolvimento fetal mais acelerado comparado com fêmeas, podendo acarretar reações diferentes a exposição de elementos externos como, por exemplo, a peçonha escorpiônica. Citocinas também podem agir de maneiras diferentes na formação de filhotes machos e fêmeas, como, por exemplo, a ação da citocina IGF-II, que parece agir de forma mais sensível na formação e crescimento de órgãos de filhotes machos do que de fêmeas (WHITE *et al.*, 2017).

Órgãos também foram afetados em filhotes de fêmeas expostas à peçonha de *T. serrulatus*. Filhotes do grupo veneno e veneno + antiveneno de GD2 apresentaram coração com massa aumentada em relação ao grupo controle e, em GD10, o grupo veneno apresentou fígado reduzido em relação ao grupo antiveneno e salina. Estes

dados podem sugerir que a peçonha pode ter influência em algum processo de desenvolvimento destes órgãos, direta ou indiretamente. Toxinas escorpiônicas afetam citocinas, substâncias de extrema importância na formação e amadurecimento do feto e de seus órgãos. O coração e o fígado possuem processos de desenvolvimento em comum, dispondo de citocinas importantes para ambos. Podemos citar citocinas da família FGF (Fator de Crescimento Fibroblástico), responsáveis por proliferar e diferenciar células do tecido cardíaco no começo da organogênese. Também são responsáveis pela proliferação e diferenciação das células hepáticas, formadas diretamente por meio da mesoderme cardíaca, tendo uma relação íntima entre a formação tanto do coração quanto do fígado (KINOSHITA e MIYAJIMA, 2002; ITOH *et al.*, 2016; SI-TAYEB *et al.*, 2010.). Além disso, a hipóxia resultante da ação das toxinas do *T. serrulatus* pode acarretar alteração dos IGF (Fator de Crescimento tipo Insulina), em especial o IGF-I e IGF-II, importantes para o crescimento celular no período gestacional, auxiliando na formação e crescimento de órgãos como fígado, coração e pulmão (BRAEMS, HAN e CHALLIS, 1998; FOWDEN, 2003; PRINGLE *et al.*, 2007; TAPANAINEN *et al.*, 1994).

Outro órgão que sofreu ação da peçonha foi a placenta, que em GD2 apresentou massa reduzida em machos do grupo veneno e veneno + antiveneno em relação ao grupo salina. A atuação do IGF, em especial IGF-I, demonstra-se importante na formação e desenvolvimento da placenta, podendo assim ter relação direta com a baixa massa observada em placentas dos grupos expostos à peçonha em GD2 (LUO *et al.*, 2012). Em diversos casos de toxicidade no período gestacional, a placenta acaba sendo afetada, em específico na zona labirinto (FURUKAWA *et al.*, 2015; PAULA, 2017; FURUKAWA, TSUJI e SUGIYAMA, 2019). Sua formação ocorre aceleradamente a partir de GD11, desenvolvendo-se até GD21 (FURUKAWA *et al.*, 2013). Contudo, a análise da área relativa da zona labirinto pela área total da placenta em GD10 não apresentou resultados significativos, dando indícios que a zona labirinto não se altera após o envenenamento por *T. serrulatus*, tampouco após o tratamento soroterápico. Não foi possível realizar histologia nas placentas de GD2, pois a elaboração destes estudos foi feita após o término dos grupos deste dia de gestação, portanto análises histológicas em GD2 seriam

interessantes para elucidar qual estrutura placentária que se desenvolve nos estágios iniciais da gestação está sendo afetada pela exposição das fêmeas prenhes à peçonha.

Essas alterações observadas nos órgãos dos filhotes de fêmeas expostas à peçonha de *T. serrulatus* contrastam com as alterações observadas em estudo anterior de Cruttenden e colegas (2008), que utilizou da mesma peçonha no GD10, observando aumento de massa de filhotes e de suas placentas e pulmões. A diferença entre os estudos é a dose da peçonha utilizada no tratamento, que no estudo de Cruttenden (2008) utilizou doses menores (1,0 mg/kg) que as utilizadas neste estudo (4,0 mg/kg). Este fato pode indicar efeitos dose dependente das toxinas da peçonha utilizada nos dois estudos. Diferentes concentrações de uma determinada substância podem desencadear ações diferentes no sistema, podendo muitas vezes vias serem suprimidas pela substância devido a superestimulação de outras vias semelhantes, apresentando efeitos que em doses menores não apareceriam. Exemplo disso é a stonustoxina (SNTX), presente em “peixes-pedra” do gênero *Synanceia*, que causa relaxamento no endotélio cardíaco em baixas concentrações, contrastando com as contrações cardíacas resultantes do aumento da concentração do veneno (CHURCH e HODGSON, 2000).

De qualquer forma, todas as alterações observadas em fêmeas que foram expostas à peçonha de *T. serrulatus* tornaram-se menos evidentes no grupo veneno + antiveneno, indicando que o tratamento soroterápico foi capaz de reverter ou inibir os efeitos que a peçonha causa no processo gestacional. Além disso, filhotes de fêmeas tratadas somente com soro não apresentaram alterações em nenhum parâmetro observado, salvo aumento da massa do coração de filhotes em GD2. Este aumento pode estar relacionado com ações inflamatórias resultante de hipersensibilidade ao soro, causando edema.

7. CONCLUSÃO

A exposição de ratas prenhes à peçonha de *T. serrulatus* causou efeitos deletérios tanto nelas mesmas quanto em suas proles. Estes efeitos observados variam de acordo com o dia gestacional em que as ratas foram expostas à peçonha, indicando alterações em processos importantes e específicos de cada período do desenvolvimento pré-natal. Além disso, as alterações observadas foram distintas entre filhotes machos e fêmeas, indicando a influência das toxinas presentes na peçonha em processos distintos entre sexos, podendo ser causados pela diferença na etapa gestacional e sensibilidade de machos e fêmeas em seu desenvolvimento pré-natal.

Apesar de poucas pesquisas sobre o assunto, verificou-se a existência de processos provocados pela peçonha de *T. serrulatus* tanto nas fêmeas em período gestacional quanto em seus filhotes que a soroterapia consegue reverter ou diminuir. Além disso, o soro por si só não provocou quase nenhum efeito que seja extremamente deletério para a fêmea prenhe e seus filhotes, indicando que a soroterapia permanece sendo o tratamento mais seguro e indicado para casos de envenenamento escorpiônico, desde que tomado o devido cuidado. Os dados aqui apresentados levantam informações e questionamentos suficientes para a elaboração de estudos mais abrangentes, além de demonstrar a importância deste tema pouco abordado na comunidade científica.

REFERÊNCIAS¹

ABROUG, FEKRI, NOUIRA, SEMIREL ATROUS, SOUHEIL et al. A canine study of immunotherapy in scorpion envenomation. **Intensive Care Medicine**, v. 29, n. 12, p. 2266-2276, 2003.

ABROUG, F., OUANES-BESBES, L. OUANES, I. et al. Meta-analysis of controlled studies on immunotherapy in severe scorpion envenomation. **Emergency Medicine Journal**, v. 28, n. 11, p. 963-969, 2011.

ADEYINKA, ADEBAYOKONDAMUDI, NOAH. Cholinergic Crisis. **Ncbi.nlm.nih.gov**. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK482433/>>. Acesso em: 3 mar. 2022.

ADI-BESSALEM, S. LARABA-DJEBARI, F. Lipid-derived inflammatory mediators: Their role in pathogenesis of scorpion envenomation. **Toxicon**, v. 75, p. 219, 2013.

ALIVERTI, V. et al. The extent of fetal ossification as an index of delayed development in teratogenic studies on the rat. **Teratology**, v. 20, n. 2, p. 237–242, 1979.

AL-ASMARI, AK, AL-SEIF, AAHASSEN, MA et al. **Europe PMC**. Europepmc.org. Disponível em: <<https://europepmc.org/article/med/18246247>>. Acesso em: 20 maio 2020.

ATES, SINAN, KARAHAN, MAHMUT ALPALTAY, NURAY et al. Approach to scorpion stings in pregnancy: A retrospective case series and literature review. **Taiwanese Journal of Obstetrics and Gynecology**, v. 57, n. 5, p. 692-695, 2018.

BAHLOUL, MABROUK, CHAARI, ANISDAMMAK, HASSAN et al. “Pulmonary edema induced by scorpion venom: Evidence of cardiogenic nature”. **International Journal of Cardiology**, v. 158, n. 2, p. 292-293, 2012.

BAHLOUL, Mabrouk et al. Pulmonary edema following scorpion envenomation: mechanisms, clinical manifestations, diagnosis and treatment. **International Journal of Cardiology**, v. 162, n. 2, p. 86-91, 2013.

BARÃO, ALINE APARECIDA SALTÃO, BELLOT, ROGERIO GENTILDORCE, VALQUIRIA ABRÃO CORONADO. Developmental effects of Tityus serrulatus scorpion venom on the rat offspring. **Brain Research Bulletin**, v. 76, n. 5, p. 499-504, 2008.

¹ De acordo com: ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS, **NBR 6023**; informação e documentação – referências – elaboração. Rio de Janeiro; ABNT, 2018.

BARÃO, A. A. S.; NENCIONI, A. L. A.; DORCE, V. A. C. Embriotoxic effects of maternal exposure to *Tityus serrulatus* scorpion venom. **Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases**, v. 14, n. 2, p. 322-337, 2008.

BARBOSA, MARINA DE OLIVEIRA RODRIGUES, DE PAULO, MARIA ELIZA F. DO VALNENCIONI, ANA LEONOR ABRAHÃO. Scorpion Envenomation of Lactating Rats Decreases the Seizure Threshold in Offspring. **Toxins**, v. 13, n. 12, p. 853, 2021.

BAWASKAR, H SBAWASKAR, P H. Utility of Scorpion Antivenin vs Prazosin in the Management of Severe Mesobuthus Tamulus (Indian Red Scorpion) Envenoming at Rural Setting. **J Assoc Physicians India**, 2007.

BAWASKAR, H. S.BAWASKAR, P. H. Efficacy and safety of scorpion antivenom plus prazosin compared with prazosin alone for venomous scorpion (*Mesobuthus tamulus*) sting: randomised open label clinical trial. **BMJ**, v. 342, n. jan05 3, p. c7136-c7136, 2011.

BAWASKAR, Himmatrao Saluba; BAWASKAR, Pramodini Himmatrao. Scorpion sting: update. **Journal of the Association of Physicians of India**, v. 60, n. 1, p. 46-55, 2012.

BEN NASR, H. et al. Some biological effects of scorpion envenomation in late pregnant rats. **Experimental and Toxicologic Pathology**, v. 61, n. 6, p. 573–580, 2009.

BERNATOVA, I. et al. Circadian differences in stress-induced pressor reactivity in mice. **Hypertension**, v. 40, n. 5, p. 768–773, 2002.

BOLON, B. Protocols for placental histology. **The Guide to Investigation of Mouse Pregnancy**, p. 537–544, 2014.

BOYER, Leslie et al. Safety of intravenous equine F (ab')₂: Insights following clinical trials involving 1534 recipients of scorpion antivenom. **Toxicon**, v. 76, p. 386-393, 2013.

BRAEMS, G. A.; HAN, V. K.; CHALLIS, J. R. Gestational age-dependent changes in the levels of mRNAs encoding cortisol biosynthetic enzymes and IGF-II in the adrenal gland of fetal sheep during prolonged hypoxemia. **Journal of Endocrinology**, v. 159, n. 2, p. 257–264, 1998.

CHIPPAUX, Jean-Philippe. Emerging options for the management of scorpion stings. **Drug Design, Development and Therapy**, v. 6, p. 165, 2012.

CHIPPAUX, J.-P.; GOYFFON, M. Epidemiology of scorpionism: a global appraisal. **Acta Tropica**, v. 107, n. 2, p. 71-79, 2008.

CHURCH, J. E.; HODGSON, W. C. Dose-dependent cardiovascular and neuromuscular effects of Stonefish (*Synanceja Trachynis*) venom. **Toxicon**, v. 38, n. 3, p. 391–407, 2000.

COLOGNA, Camila T. et al. *Tityus serrulatus* scorpion venom and toxins: an overview. **Protein and Peptide Letters**, v. 16, n. 8, p. 920-932, 2009.

CONNER, S.; IRANPOUR, B.; MILLS, J. Alteration in parotid salivary flow in diabetes mellitus. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology**, v. 30, n. 1, p. 55–59, 1970.

COTA-ARCE, JULIÁN M., ZAZUETA-FAVELA, DANIELADÍAZ-CASTILLO, FERNANDO et al. Venom components of the scorpion *Centruroides limpidus* modulate cytokine expression by T helper lymphocytes: Identification of ion channel-related toxins by mass spectrometry. **International Immunopharmacology**, v. 84, p. 106505, 2020.

CUPO, Palmira. Clinical update on scorpion envenoming. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 48, n. 6, p. 642-649, 2015.

CRUTTENDEN, Karen et al. Reproductive toxic effects of *Tityus serrulatus* scorpion venom in rats. **Reproductive Toxicology**, v. 25, n. 4, p. 497-503, 2008.

DAHLGREN, JOVANNA, SAMUELSSON, ANNE-MAJANSSON, THOMAS et al. Interleukin-6 in the Maternal Circulation Reaches the Rat Fetus in Mid-gestation. **Pediatric Research**, v. 60, n. 2, p. 147-151, 2006.

DEMIREL, MURSIDE AYSE, ALCIGIR, MEHMET ERAYOZKAN, OZCAN et al. The effects of antivenom administrations on the brain tissue of experimentally envenomed pregnant rats and their pups with *Androctonus crassicauda* scorpion venom during organogenesis period. **Toxicon**, v. 200, p. 13-18, 2021.

DORCE, Ana Leticia Coronado et al. Effects of prenatal exposure to *Tityus bahiensis* scorpion venom on rat offspring development. **Reproductive Toxicology**, v. 28, n. 3, p. 365-370, 2009.

DORCE, Ana Leticia Coronado; DORCE, Valquiria Abrão Coronado; NENCIONI, Ana Leonor Abrahão. Effects of in utero exposure to *Tityus bahiensis* scorpion venom in adult rats. **Neurotoxicology and teratology**, v. 32, n. 2, p. 187-192, 2010.

DORCE, Ana Leticia C.; DORCE, Valquiria AC; NENCIONI, Ana Leonor A. Mild reproductive effects of the *Tityus bahiensis* scorpion venom in rats. **Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases**, v. 20, n. 1, p. 4, 2014.

DORCE, ANA L.C., FRARE, EDUARDO O.PAULO, MARIA E.F.V. et al. *Tityus bahiensis* scorpion venom injected to dams during pregnancy affects some cytokines of fetuses. **Toxicon**, v. 103, p. 114-118, 2015.

DORCE, Ana Leticia Coronado et al. Perinatal effects of scorpion venoms: maternal and off- spring development. **Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases**, v. 23, n. 1, p. 31, 2017.

DUNNIHOO, D. R. et al. Snake bite poisoning in pregnancy. A review of the literature. **The Journal of reproductive medicine**, v. 37, n. 7, p. 653-658, 1992.

ELATROUS, SOUHEIL, OUANES-BESBES, LAMIABEN SIK-ALI, HABIBA et al. Study of severe scorpion envenoming following subcutaneous venom injection into dogs: Hemodynamic and concentration/effect analysis. **Toxicon**, v. 104, p. 1-6, 2015.

EVANS, EDWARD R. J., NORTHFIELD, TOBIN D. DALY, NORELLE L. et al. Venom Costs and Optimization in Scorpions. **Frontiers in Ecology and Evolution**, v. 7, 2019.

FOWDEN, A. The insulin-like growth factors and Feto-placental growth. **Placenta**, v. 24, n. 8-9, p. 803–812, 2003.

FRASSONE, NATALIA E., FORD, JAMES S. VILLALON, DIANA et al. Evaluation of Scorpion Envenomation by *Tityus trivittatus* in Adults: An Analysis of Variables Related to Severity of Clinical Presentation. **Wilderness & Environmental Medicine**, v. 30, n. 3, p. 274-280, 2019.

FURUKAWA, SATOSHI, TSUJI, NAHOHAYASHI, SEIGO et al. Histomorphological comparison of rat placentas by different timing of chlorpromazine-administration. **Experimental and Toxicologic Pathology**, v. 67, n. 9, p. 443-452, 2015.

FURUKAWA, SATOSHI, TSUJI, NAHOSUGIYAMA, AKIHIKO. Morphology and physiology of rat placenta for toxicological evaluation. *Journal of Toxicologic Pathology*, v. 32, n. 1, p. 1-17, 2019.

FUKUHARA, Y.D.M, REIS, M. LDELLALIBERA-JOVILIANO, R et al. Increased plasma levels of IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-10 and TNF- α in patients moderately or severely envenomed by *Tityus serrulatus* scorpion sting. **Toxicon**, v. 41, n. 1, p. 49-55, 2003.

GANGUR, ALEX N., SMOUT, MICHAELIDDELL, MICHAEL J. et al. Changes in predator exposure, but not in diet, induce phenotypic plasticity in scorpion venom. **Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 284, n. 1863, p. 20171364, 2017.

GOMES, JACIMARA VASQUES, FÉ, NELSON FERREIRASANTOS, HILDEGARD LOREN REBOUÇAS et al. Clinical profile of confirmed scorpion stings in a referral center in Manaus, Western Brazilian Amazon. **Toxicon**, v. 187, p. 245-254, 2020.

GUERON, MOSCHE, STERN, JOSEPHCOHEN, WILHELMINA. Severe myocardial damage and heart failure in scorpion sting. **The American Journal of Cardiology**, v. 19, n. 5, p. 719-726, 1967.

INTAPAD, SUTTIRA, WARRINGTON, JUNIE P. SPRADLEY, FRANK T. et al. Reduced uterine perfusion pressure induces hypertension in the pregnant mouse. **American**

Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology, v. 307, n. 11, p. R1353-R1357, 2014.

ISBISTER, Geoffrey K.; BAWASKAR, Himmatrao Saluba. Scorpion envenomation. **New England Journal of Medicine**, v. 371, n. 5, p. 457-463, 2014.

ISMAIL, M., OSMAN, O.H.EL-ASMAR, M.F. Pharmacological studies of the venom from the scorpion *Buthus minax* (L. Koch). **Toxicon**, v. 11, n. 1, p. 15-20, 1973.

ISMAIL, M., ELLISON, A.C.TILMISANY, A.K. Teratogenicity in the rat of the venom from the scorpion *Androctonus amoreuxi* (Aud. & Sav.). **Toxicon**, v. 21, n. 2, p. 177-189, 1983.

ITOH, N. et al. Roles of FGF signals in heart development, health, and disease. **Frontiers in Cell and Developmental Biology**, v. 4, 2016.

KIM, K.-S. et al. Repeated short-term (2H×14d) emotional stress induces lasting depression-like behavior in mice. **Experimental Neurobiology**, v. 21, n. 1, p. 16–22, 2012.

KINOSHITA, T.; MIYAJIMA, A. Cytokine regulation of liver development. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research**, v. 1592, n. 3, p. 303–312, 2002.

KO, J.-H.; CHUNG, W.-H. Serum sickness. **The Lancet**, v. 381, n. 9862, 2013.

LANGLEY, Ricky Lee. Snakebite during pregnancy: a literature review. **Wilderness & Environmental Medicine**, v. 21, n. 1, p. 54-60, 2010.

LAUSTSEN, Andreas Hougaard et al. Biotechnological trends in spider and scorpion anti- venom development. **Toxins**, v. 8, n. 8, p. 226, 2016.

LOTT, ERICAJONES, ELIZABETH. Cholinergic Toxicity. **Ncbi.nlm.nih.gov**. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK539783/>>. Acesso em: 3 mar. 2022.

LUO, Z.-C. et al. Maternal and fetal IGF-I and IGF-II levels, fetal growth, and gestational diabetes. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 97, n. 5, p. 1720–1728, 2012.

MANSON, J. M.; KANG, Y. J. Test methods for assessing female reproductive and developmental toxicology. **Principles and Methods of Toxicology**, p. 1665–1736, 2007.

MARTINS, ADRIANA DO NASCIMENTO, NENCIONI, ANA LEONOR ABRAHÃO DORCE, ANA LETICIA CORONADO et al. Effect of maternal exposure to *Tityus bahiensis* scorpion venom during lactation on the offspring of rats. **Reproductive Toxicology**, v. 59, p. 147-158, 2016.

MARTINS, ADRIANA DO NASCIMENTO, NETO, EMIDIO BERALDODO VAL DE PAULO, MARIA ELIZA FERREIRA et al. Exposure of lactating wistar rats to Tityus bahiensis scorpion venom: Effects on cytokine and growth factor (BDNF) levels of offspring. **Toxicon**, v. 177, p. S59, 2020.

MATSUMOTO, N. et al. Hyperglycemia induces generation of reactive oxygen species and accelerates apoptotic cell death in salivary gland cells. **Pathobiology**, v. 88, n. 3, p. 234–241, 2021.

MCKINLEY, M. et al. Physiological and pathophysiological influences on thirst. **Physiology & Behavior**, v. 81, n. 5, p. 795–803, 2004.

MEBS, Dietrich. **Venomous and poisonous animals**. Medpharm, Stuttgart, p. 339, 2002.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Manual de diagnóstico e tratamento por animais peçonhentos**. Ministério da Saúde, 2001.p. 1-111.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Manual de controle de escorpiões**. Ministério da Saúde, 2009.p. 1-74.

MONTEIRO, WUELTON MARCELO, GOMES, JACIMARAFÉ, NELSON et al. Perspectives and recommendations towards evidence-based health care for scorpion sting envenoming in the Brazilian Amazon: A comprehensive review. **Toxicon**, v. 169, p. 68-80, 2019.

MOUSA, Alyaa; BAKHIET, Moiz. Role of cytokine signaling during nervous system development. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 14, n. 7, p. 13931-13957, 2013.

NASR, Hmed Ben et al. Some biological effects of scorpion envenomation in late pregnant rats. **Experimental and Toxicologic Pathology**, v. 61, n. 6, p. 573-580, 2009.

OCHOA, JOSÉ A.ROJAS-RUNJAIC, FERNANDO J.M. Scorpions. **Biodiversity of Pantepui**, p. 223-246, 2019.

OSMAN, O.H., ISMAIL, M.EL-ASMAR, M.F. et al. Effect on the rat uterus of the venom from the scorpion Leirus quinquestriatus. **Toxicon**, v. 10, n. 4, p. 363-IN14, 1972.

PAULA, THAÍS DE MÉRICI DOMINGUES E. Alterações estruturais placentárias e do desenvolvimento fetal decorrentes do consumo crônico de cafeína durante a gestação em camundongos. **Repositório UFMG**. Disponível em: <<http://hdl.handle.net/1843/33770>>. Acesso em: 3 mar. 2022.

PETRICEVICH, Vera L. Scorpion venom and the inflammatory response. **Mediators of Inflammation**, v. 2010, 2010.

PRINGLE, K. G. et al. Complex interactions between hypoxia inducible factors, insulin-like growth factor-II and oxygen in early murine trophoblasts. **Placenta**, v. 28, n. 11-12, p. 1147–1157, 2007.

PUCCA, Manuela Berto et al. *Tityus serrulatus* venom – A lethal cocktail. **Toxicon**, v. 108, p. 272-284, 2015.

QUINTERO-HERNÁNDEZ, V., JIMÉNEZ-VARGAS, J.M.GURROLA, G.B. et al. Scorpion venom components that affect ion-channels function. **Toxicon**, v. 76, p. 328-342, 2013.

RAMIREZ-CRUZ, MARIA P., RAYBURN, WILLIAM F.SEIFERT, STEVEN A. **Envenomations and antivenom during pregnancy**. *Clinical Pharmacology During Pregnancy*, p. 389-408, 2022.

RECKZIEGEL, Guilherme Carneiro; PINTO JUNIOR, Vitor Laerte. Análise do escorpionismo no Brasil no período de 2000 a 2010. **Revista Pan-Amazônica de Saúde, Ananindeua** , v. 5, n. 1, p. 67-68, mar. 2014

REIS, MOUZARLEM BARROS, ZOCCAL, KARINA FURLANIGARDINASSI, LUIZ GUSTAVO et al. Scorpion envenomation and inflammation: Beyond neurotoxic effects. **Toxicon**, v. 167, p. 174-179, 2019.

RUTLEDGE, JOE C. **Developmental toxicity induced during early stages of mammalian embryogenesis**. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, v. 396, n. 1-2, p. 113-127, 1997.

SANTOS, MARIA S.V., SILVA, CLÁUDIO G.L.NETO, BASÍLIO SILVA et al. Clinical and Epidemiological Aspects of Scorpionism in the World: A Systematic Review. **Wilderness & Environmental Medicine**, v. 27, n. 4, p. 504-518, 2016.

SELLER, M. J.; PERKINS-COLE, K. J. Sex difference in mouse embryonic development at neurulation. **Reproduction**, v. 79, n. 1, p. 159–161, 1987.

SHAMOON, ZAFAR, PETERFY, RYANHAMMOUD, SAMI et al. Scorpion Toxicity. Ncbi.nlm.nih.gov. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK430928/>>. Acesso em: 3 mar. 2022.

SILVA, H. Asita; RYAN, Nicole M.; SILVA, H. Janaka. Adverse reactions to snake antivenom, and their prevention and treatment. **British Journal of Clinical Pharmacology**, v. 81, n. 3, p. 446-452, 2016.

SINAN.Tabnet, 2022.**Notificações registradas no SINAN em acidentes por animais peçonhentos**.Disponível em:

<http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/tabcgi.exe?sinannet/cnv/animaisbr.def> Acesso em: 8 de ago. De 2022.

SI-TAYEB, K.; LEMAIGRE, F. P.; DUNCAN, S. A. Organogenesis and development of the liver. **Developmental Cell**, v. 18, n. 2, p. 175–189, 2010.

SORO ANTIESCORPIÔNICO: Solução injetável. Responsável técnico Dra. Silvia Regina Q. Sperb. São Paulo: **Instituto Butantan**, 2017. Disponível em: https://butantan.gov.br/assets/pdf/soros_vacinas/soros/Bula-Soro-Antiescorpionico-Instituto-Butantan-Paciente-Consulta-Remedios.pdf. Acesso em: 19 fev. 2022.

TAPANAINEN, P. J. et al. Maternal hypoxia as a model for intrauterine growth retardation: Effects on insulin-like growth factors and their binding proteins. **Pediatric Research**, v. 36, n. 2, p. 152–158, 1994.

TARASIUK, ARIEL, KHVATSKIN, SOFIASOFER, SHAUL. Effects of antivenom serotherapy on hemodynamic pathophysiology in dogs injected with *L. quinquestriatus* scorpion venom. **Toxicon**, v. 36, n. 7, p. 963-971, 1998.

TAYLOR, P.; TAYLOR, P. **Practical teratology**. Tradução . London: Academic Press, 1986.

TEIXEIRA, ANTONIO L. TEIXEIRA, MAURO M. Mechanisms involved in myocardial necrosis and pulmonary oedema after *Tityus serrulatus* scorpion envenomation. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 97, n. 1, p. 122-123, 2003.

WARD, MICAIAH J., ELLSWORTH, SCHYLER A. NYSTROM, GUNNAR S. A global accounting of medically significant scorpions: Epidemiology, major toxins, and comparative resources in harmless counterparts. **Toxicon**, v. 151, p. 137-155, 2018.

WHITE, V. et al. IGF2 stimulates fetal growth in a sex- and organ-dependent manner. **Pediatric Research**, v. 83, n. 1, p. 183–189, 2017.

WILSON, J.G. (1965) Methods for Administering Agents and Detecting Malformations in Experimental Animals. In: Wilson, J.G. and Warkany, J., Eds., **Teratology: Principals and Techniques**, University of Chicago Press, Chicago, 262-277.

ZUHAIR S., ABU BAKER, MOHAMMAD A. AL-SARAIREH, MOHAMMAD et al. Scorpions and scorpion sting envenoming (scorpionism) in the Arab Countries of the Middle East. **Toxicon**, v. 191, p. 83-103, 2021.

