

Hemograma de cães submetidos ao envenenamento experimental por *Tityus serrulatus*

[Canine blood profile after experimental envenomation by *Tityus serrulatus*]

E.L. Ribeiro, M.M. Melo*, M.C.L. Pinto, C.R. Labarrère, P.T.C. Guimarães, P.R.O. Paes, F.O.P. Leme

Escola de Veterinária - UFMG
Caixa Postal 567
30123-970 – Belo Horizonte, MG

RESUMO

Avaliou-se o hemograma de 12 cães adultos, saudáveis (14,2±5,4kg) após a inoculação de veneno do escorpião amarelo (*Tityus serrulatus*). Os animais foram distribuídos em dois grupos (G), com seis em cada: os do GI foram usados como controle e receberam 0,5mL de salina tamponada com fosfato (PBS) por via subcutânea (SC) na face medial da coxa esquerda (FMCE), e os do GII receberam veneno liofilizado do *T. serrulatus* (250µg/kg) diluído em PBS por via SC na FMCE. Foram realizadas colheitas de sangue com anticoagulante EDTA a 10% antes da inoculação do veneno (T0) e após 2h, (T1), 6h (T2), 12h (T3), 24h (T4), 48h (T5) e 72h (T6), para contagem de eritrócitos, leucócitos e plaquetas em aparelho contador eletrônico e esfregaços sanguíneos para contagem diferencial de leucócitos. Houve aumento significativo (P<0,05) dos valores de eritrócitos, volume globular e hemoglobina 2h e 6h após o envenenamento, devido à contração esplênica decorrente da dor local causada pelo veneno e pela liberação de catecolaminas. Foi observada leucocitose por aumento significativo (P<0,05) de neutrófilos e linfócitos 2h e 6h após o envenenamento. Concluiu-se que o veneno de *Tityus serrulatus* na dose de 250µg/kg, é capaz de aumentar os valores do eritograma e do leucograma dos cães, provavelmente devido à dor local, com liberação de catecolaminas.

Palavras-chave: cão, escorpionismo, *Tityus serrulatus*, hematologia

ABSTRACT

The canine blood profile after scorpion envenomation was evaluated using 12 healthy mongrel male dogs (14.2±5.4kg) distributed in two groups, with six animals in each: group I (control group) and group II (venom group). The lyophilized yellow scorpion (*Tityus serrulatus*) venom (250µg/kg) diluted in 0.5mL phosphate buffered saline (PBS) was given to group II animals by subcutaneous injection, in the medial face of the left thigh. Group I animals received only 0.5mL of PBS, by subcutaneous injection, in the medial face of the left thigh. Blood samples were collected with EDTA before (T0) and 2 (T1), 6 (T2), 12 (T3), 24 (T4), 48 (T5), and 72h (T6) after envenomation. Significant increases (P<0.05) in erythrocytes counting, hematocrit and hemoglobin concentration, 2 and 6h after envenomation were observed. Leukocytosis with significant increases (P<0.05) of neutrophils and lymphocytes 2 and 6h after envenomation was found. Then, *T. serrulatus* venom may induce alterations in blood profile in dogs, probably due to spleen contraction evoked by pain and catecholamines releasing.

Keywords: dog, envenomation, *Tityus serrulatus*, blood profile

Recebido em 10 de outubro de 2008

Aceito em 30 de janeiro de 2009

*Autor para correspondência (corresponding author)

E-mail: marilia@vet.ufmg.br

INTRODUÇÃO

Os dados do Ministério da Saúde indicam que ocorrem cerca de 8000 acidentes por ano, no Brasil, com um coeficiente de incidência de três casos para cada 100.000 habitantes (Manual..., 2001). Cerca de 50% dos acidentes são diagnosticados nos estados de Minas Gerais e São Paulo, mas tem-se registrado aumento de notificações provenientes da Bahia, Rio Grande do Norte, Alagoas e Ceará (Manual..., 2001; Soares et al., 2002; Cupo et al., 2003). Todavia, não se sabe qual o número de animais domésticos, especialmente o cão, picados por escorpiões. Estima-se que seja elevado, pois o cão doméstico divide com o homem o mesmo ambiente.

Os escorpiões vivem em locais de clima tropical e são muito adaptados ao ambiente urbano, onde têm alimentação farta e sem competição (Bücherl, 1969). O escorpião da espécie *Tityus serrulatus* é o mais prevalente e envolvido em mais de 95% dos acidentes (Soares et al., 2002; Campolina, 2006).

O veneno de escorpiões é caracterizado pela variedade e complexidade de toxinas, e apenas nos da família *Buthidae* há espécies que produzem neurotoxinas. O número total de diferentes toxinas produzidas por escorpiões é estimado em 100.000, das quais, apenas 1% é conhecido. A composição química individual do veneno de cada espécie, no entanto, não é tão complexa quanto à de venenos de serpentes (Oliveira et al., 2007). É composto basicamente por proteínas de baixo peso molecular com cadeias curtas de aminoácidos, mucopolissacarídeos, pequenas quantidades de hialuronidases e neurotoxinas, sem atividade hemolítica, proteolítica, colinesterásica, fosfolipásica e fibrinogenolítica (Cupo et al., 2003; Gazarian et al., 2005).

O mecanismo de ação do veneno escorpiônico envolve a ligação de toxina em canais de sódio pós-ganglionares, com função estimuladora sendo descritas toxinas voltagem-dependente ou não; como a função é estimuladora, o sódio entra na célula. Outras proteínas ligam-se a canais de potássio pós-ganglionares, mas com função bloqueadora, ou seja, não permitem o retorno do potássio para a célula, que se acumula no meio extracelular. O resultado é a despolarização da

membrana, potencial de ação e liberação de catecolaminas (adrenalina e noradrenalina) e acetilcolina pelas terminações neuronais nas sinapses. (Ismail, 1995; Gazarian et al.; 2005). Portanto, dependendo do neurotransmissor liberado e da fibra nervosa, os efeitos podem ser adrenérgicos ou colinérgicos. Entre os efeitos mais graves, destacam-se as alterações cardiovasculares, com miocardite e insuficiência cardíaca congestiva, edema pulmonar e hipertensão arterial (Ismail, 1995; Cupo et al., 2003).

Leucocitose com neutrofilia foi relatada em humanos com quadro de envenenamento escorpiônico (Bucarechi et al., 1995; Cupo e Hering, 2002), e estudos com animais de laboratório demonstraram aumento do hematócrito, decorrente de hemoconcentração advinda de perdas hídricas, sobretudo pelo aumento de secreções do trato gastrointestinal devido ao efeito parassimpático da acetilcolina, causando vômitos, diarreia e sialorreia (Andrade et al., 2004). Bertazzi et al. (2003) também observaram aumento do hematócrito sendo esse atribuído ao aumento das proteínas de fase aguda do processo inflamatório.

O objetivo deste trabalho foi caracterizar o perfil hematológico de cães após a inoculação experimental do veneno de *T. serrulatus*.

MATERIAL E MÉTODOS

Foi utilizado um *pool* de venenos de vários escorpiões da espécie *Tityus serrulatus* capturados na região de Belo Horizonte (MG), gentilmente cedido pelo professor Chávez-Olórtegui¹. A concentração de 250µg/kg de veneno de *T. serrulatus* foi determinada, previamente, em um experimento-piloto, e diluída em 0,5mL de solução salina tamponada com fosfato (PBS).

Foram utilizados 12 cães sem raça definida, machos, adultos, saudáveis (14,2±5,4kg) com sorologia negativa para leishmaniose², cedidos pelos Centros de Controle de Zoonoses de Belo

¹Professor Carlos Delfin Chávez-Olórtegui – Instituto de Ciências Biológicas - UFMG.

²ELISA e RIFI - Professor Elvino Carlos Moreira - Escola de Veterinária - UFMG.

Hemograma de cães...

Horizonte e Betim (MG). Os cães, após passarem por quarentena de 15 dias, período em que foram examinados, banhados³, desverminados⁴, tratados contra ectoparasitas⁵ e vacinados⁶, foram abrigados em canis individuais (2m x 3m) com solário onde receberam dieta à base de ração canina comercial e água à vontade.

Os animais foram distribuídos aleatoriamente em dois grupos (G), com seis cães em cada: os do GI foram usados como controle e receberam 0,5mL de salina tamponada com fosfato (PBS) por via subcutânea (SC) na face medial da coxa esquerda (FMCE), e os do GII receberam veneno liofilizado do *T. serrulatus* (250µg/kg) diluído em PBS por via SC na FMCE. Para inoculação do PBS (placebo) e do veneno diluído em PBS, utilizou-se seringa hipodérmica descartável de 1,0mL para insulina, com dispositivo de esparadrapo adaptado à agulha para mimetizar o agulhão do escorpião.

Amostras de sangue foram colhidas antes do envenenamento (T0) e após 2h (T1), 6h (T2), 12h (T3), 24h (T4), 48h (T5) e 72h (T6). As colheitas foram feitas por venopunção jugular ou cefálica com agulha para colheita a vácuo⁷ antecedida por anti-sepsia local com álcool iodado. O sangue foi colhido em tubos de 3mL⁸ contendo sal dissódico do ácido etilenodiaminotetracético (EDTA) a 10% e sem anticoagulante para obtenção do soro.

O hemograma foi realizado da seguinte forma: (a) contagem de hemácias, determinação da hemoglobina, volume globular, contagem total de leucócitos e plaquetas foram processados em contador eletrônico⁹; (b) contagem diferencial de leucócitos e observação morfológica das células sanguíneas, foram realizadas em esfregaços sanguíneos em lâminas de vidro (26 x 76mm)¹⁰ corados com May Grunwald - Giemsa¹¹. A dosagem sérica de proteínas totais (PT) foi feita

por método colorimétrico cinético¹² em aparelho analisador bioquímico¹³.

O delineamento experimental aplicado foi o inteiramente ao acaso, em esquema de parcelas subdivididas, conforme Sampaio (2007). As parcelas correspondem aos tratamentos (controle e veneno) e as subparcelas, aos tempos, em horas. Os dados referentes aos diferentes grupos e tempos foram plotados em tabelas e analisados pelos programas SAS/1985 e SAEG (Sistema..., 1998). Foram realizados os testes de normalidade (Lillifors, Kolmogorov-Smirnov e Shapiro-Wilk) e, para as variáveis que apresentaram distribuição normal (algumas delas após sofrer transformação logarítmica ($\log 10 x + 1$)), foi realizada a análise de variância e a comparação de médias pelo teste Tukey.

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

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O número de hemácias e o volume globular (VG) dos animais dos grupos I e II são apresentados na Tab.1. No grupo II, ocorreu aumento de 16% no T1 ($P < 0,05$), tanto no número de hemácias quanto no VG. No T2, 6h após o envenenamento, esses valores já haviam diminuído, mas ainda eram diferentes dos valores de T0 e dos tempos seguintes. Em T3, retornaram aos valores basais. No grupo I (controle), não houve diferenças entre os tempos para essas variáveis, mas a contagem de hemácias de T1 e T2 do grupo de animais envenenados foi significativamente maior que a do grupo-controle. A concentração de hemoglobina (Tab. 2) apresentou variação muito semelhante, sem alterações no grupo I e aumento de 16% em T1 no grupo II, e também diferente do valor de T1 do grupo I ($P < 0,05$). A concentração de hemoglobina retornou aos valores basais 12h após, em T3. A concentração de proteínas totais, apresentada na Tab. 2, não diferiu entre grupos e tempos ($P > 0,05$).

³Shampoo Sanol Dog - Total Química – Embu, Brasil.

⁴Helfine Cães - Agener União – São Paulo, Brasil.

⁵TopLine RED – Merial Saúde Animal

⁶Vanguard – Pfizer Saúde Animal – Guarulhos, Brasil.

⁷Labor Import – Osasco, Brasil.

⁸Greiner Bio-One Brasil – Americana, Brasil.

⁹CELM DA-500 - CELM, Cia. Equipadora de Laboratórios Modernos – Barueri, Brasil.

¹⁰Lâminas para microscopia Exacta - Perfecta – São Paulo, Brasil.

¹¹May Grunwald/Giemsa - Doles Reagentes – Goiânia, Brasil.

¹²Synermed International Inc. – Westfield, EUA.

¹³Cobas Mira (Roche-GMI) - Global Medical Instrumentations, Inc. – Ramsey, EUA.

Os valores médios de hemácias, VG e hemoglobina apresentaram discretos aumentos. Porém, dos seis cães envenenados, duas horas após a inoculação do veneno, três apresentaram aumento significativo no número de hemácias (cão 2: $8,34 \times 10^6/\mu\text{L}$; cão 3: $8,15 \times 10^6/\mu\text{L}$ e

cão 6: $9,24 \times 10^6/\mu\text{L}$); no VG (cão 3: 47% e cão 6: 58%) e na concentração de hemoglobina (cão 3: 16,2g/dL e cão 6: 20,3g/dL). Não houve diferença ($P>0,05$) entre os índices hematimétricos (Tab. 3).

Tabela 1. Valores médios de hemácias e volume globular de cães inoculados com placebo (grupo I) e com veneno de *Tityus serrulatus* (grupo II) em diferentes tempos

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

Médias seguidas por letras maiúsculas distintas diferem entre os grupos (linhas) e seguidas por letras minúsculas distintas diferem entre os tempos (colunas), pelo teste Tukey ($P<0,05$).

Tabela 2. Valores médios das concentrações de hemoglobina e de proteínas totais de cães inoculados com placebo (grupo I) e com veneno de *Tityus serrulatus* (grupo II) em diferentes tempos

Tempo	Hemoglobina (g/dL)		Proteínas Totais (g/dL)	
	Grupo I	Grupo II	Grupo I	Grupo II
T zero	14,30 \pm 1,47Aa	13,15 \pm 1,88Ac	6,22 \pm 0,75Aa	7,08 \pm 0,95Aa
T1 – 2h	13,30 \pm 1,13Ba	15,25 \pm 3,03Aa	5,95 \pm 0,83Aa	7,10 \pm 1,06Aa
T2 – 6h	14,01 \pm 1,10Aa	14,55 \pm 2,60Aab	6,32 \pm 0,76Aa	7,22 \pm 1,17Aa
T3 – 12h	13,78 \pm 1,19Aa	13,70 \pm 2,22Abc	6,20 \pm 0,70Aa	7,12 \pm 0,94Aa
T4 – 24h	13,58 \pm 1,28Aa	12,55 \pm 1,92Ac	6,10 \pm 0,72Aa	6,95 \pm 0,91Aa
T5 – 48h	13,20 \pm 0,74Aa	12,03 \pm 1,76Ad	5,82 \pm 0,30Aa	6,90 \pm 1,56Aa
T6 – 72h	14,08 \pm 1,35Aa	12,62 \pm 1,29Ac	6,23 \pm 0,77Aa	6,97 \pm 1,47Aa

Médias seguidas por letras maiúsculas distintas diferem entre os grupos (linhas) e seguidas por letras minúsculas distintas diferem entre os tempos (colunas), pelo teste Tukey ($P<0,05$).

Tabela 3. Valores médios de hemoglobina globular média (HGM), volume globular médio (VGM) e concentração de hemoglobina globular média (CHGM) de cães inoculados com placebo (grupo I) e com veneno de *Tityus serrulatus* (grupo II) em diferentes tempos

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

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

Policitemias podem ser relativas ou absolutas e envolvem aumentos nos valores de hemácias, VG e hemoglobina. Um VG de 50% torna o

sangue mais viscoso, o que dificulta o transporte de oxigênio e, quando esse valor ultrapassa 60%, é considerado policitemia. Aumentos agudos

Hemograma de cães...

nesses valores retornando à normalidade rapidamente, com a correção da causa, caracterizam as policitemias relativas, que podem ser consequências de dois mecanismos distintos: (1) diminuição de volume plasmático, causado por desidratação, levando ao aumento do VG, mas não alterando a massa total de eritrócitos circulantes; (2) contração esplênica, após estresse ou dor, com injeção temporária de grande massa de eritrócitos na corrente sanguínea (Jain, 1993).

As alterações citadas, provavelmente ocorreram por contração esplênica, em função da dor e da ação de catecolaminas sobre o baço. Os cães 2 e 6, que apresentaram, individualmente, altas contagens de hemácias e VG, foram, coincidentemente, os que apresentaram episódio emético após a inoculação do veneno. O cão 2 vomitou 3,5h após o envenenamento, descartando-se o efeito da diminuição do volume plasmático, pois o aumento de VG aconteceu 2h após o envenenamento (T1) e antes do episódio emético, levando à suposição de que o aumento das proteínas de fase aguda (Fagliari et al., 2007, 2008; Saquetti et al., 2008) tenha contribuído com o aumento do VG, semelhante ao observado por Bertazzi et al. (2003). O cão 6, no entanto, apresentou emese 1h após a inoculação, fazendo supor que a discreta desidratação do animal (abaixo de 5%, sem manifestação clínica) possa ter se somado aos efeitos da contração esplênica observada em T1. Ressalta-se que os cães 2 e 6 também foram os únicos a manifestar dor abdominal. O retorno desses parâmetros aos valores normais ocorreu entre 6 e 12h após, coincidindo com o período de eliminação do veneno.

A contração esplênica pode causar aumento do hematócrito em consequência do efeito simpatoadrenal evocado pelo veneno escorpiônico. Andrade et al. (2004) realizaram uma avaliação completa dos níveis plasmáticos de eletrólitos e do balanço ácido-básico em ratos e observaram aumento significativo de hematócrito 60 minutos após inoculação de veneno de *T. serrulatus*. O efeito da contração esplênica em cães, após o envenenamento escorpiônico (*Leirus quinquestriatus*), foi estudado por Tarasiuk e Sofer (1999), após bloqueio de receptores adrenérgicos esplênicos e ligaduras em vasos sanguíneos do baço, demonstrando-se que a contração esplênica ocorre em razão do efeito das catecolaminas. Bertazzi et al. (2003), ao avaliarem o hematócrito em ratos, após a inoculação de veneno bruto de *T. serrulatus* e de sua toxina mais importante, a TsTX-I, observaram hemoconcentração atribuída às perdas de líquidos por salivação, lacrimejamento e micção, e ao aumento das proteínas de fase aguda do processo inflamatório.

A contagem de plaquetas diferiu entre tempos apenas no grupo-controle ($P < 0,05$), porém, todos os valores encontrados (Tab. 4) enquadram-se dentro da margem de referência para a espécie canina ($150 - 500 \times 10^3/\mu\text{L}$), segundo Jain (1993). A variação encontrada foi muito discreta, caracterizada por diminuição gradativa até 12h. Provavelmente, isso ocorreu em função da colheita de sangue realizada em intervalos muito curtos.

Tabela 4. Valores médios de plaquetas de cães inoculados com placebo (grupo I) e com veneno de *Tityus serrulatus* em diferentes tempos

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

Médias seguidas por letras maiúsculas distintas diferem entre os grupos (linhas) e seguidas por letras minúsculas distintas diferem entre os tempos (colunas), pelo teste Tukey ($P < 0,05$).

A agregação plaquetária e a síndrome de coagulação intravascular disseminada em cães foram relatadas no envenenamento escorpiónico por *Centruroides sculpturatus* causada por frações não-neurotóxicas do veneno que estimularam a liberação do fator de agregação plaquetária (PAF), além de, possivelmente, serem indutoras de “síndrome de desfibrinação” (Longenecker e Longenecker, 1981). Além disso, sabe-se que a agregação plaquetária pode ser provocada pela adrenalina (El-Asmar, 1984; Dodds, 1997). Apesar de no presente trabalho não terem sido avaliadas a hemostasia e a função plaquetária dos cães, supõe-se que a contagem estável de plaquetas nos animais envenenados associada à ausência de sinais de hemorragia indiquem que nem o veneno de *Tityus serrulatus* nem a descarga de catecolaminas causaram agregação, consumo de plaquetas e anormalidades na coagulação sanguínea.

A contagem de leucócitos totais encontra-se na Tab. 5. Houve aumento significativo ($P < 0,05$)

em T1 e T2 no GII. Em T3, o valor era menor, mas só em T4, 24h após o envenenamento, o número de leucócitos voltou aos valores iniciais. No GI, não houve diferenças entre os tempos, mas os valores encontrados em T1 e T2 foram estatisticamente mais baixos que os do GII. A contagem diferencial dos leucócitos em esfregaços sanguíneos mostrou que o aumento no número de leucócitos totais foi devido, principalmente, ao aumento de neutrófilos e linfócitos (Tab. 6).

De maneira semelhante à contagem de leucócitos totais, a contagem de neutrófilos não diferiu entre tempos no GI, mas foi maior ($P < 0,05$) no GII, em T1 e T2. Em T3, o valor médio diminuiu, mas só em T4 voltou a ser semelhante ao valor inicial. O número de linfócitos apresentou, no GII, o maior valor em T1, diferente estatisticamente do valor do mesmo tempo no GI. Porém, em nenhum dos tempos houve contagem média diferente da contagem do T0.

Tabela 5. Valores médios de leucócitos totais de cães inoculados com placebo (grupo I) e com veneno de *Tityus serrulatus* (grupo II) em diferentes tempos

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

Médias seguidas por letras maiúsculas distintas diferem entre os grupos (linhas) e seguidas por letras minúsculas distintas diferem entre os tempos (colunas), pelo teste Tukey ($P < 0,05$).

Na contagem diferencial de leucócitos, não foram encontrados neutrófilos jovens, tanto no GI quanto no GII. Esse fato, aliado à rapidez com que o número médio de neutrófilos se elevou (2h) e retornou ao valor inicial (24h), indica que a leucocitose é fisiológica. Nos cães, o compartimento marginal dos neutrófilos é igual ao compartimento circulante. A liberação súbita de neutrófilos desse compartimento ocorre após refeições, na gestação, após exercícios intensos ou prolongados, vômitos, convulsões e no estresse por mediação de catecolaminas (Jain, 1993). A leucocitose com neutrofilia foi relatada em diversos acidentes escorpiónicos com humanos (Bucarechi et al., 1995; Cupo e Hering, 2002; Cupo et al., 2003) e em apenas um

relato de caso em cão (Cordeiro et al., 2006). Os resultados deste experimento indicam neutrofilia causada pela dor, pelo estresse e pelo efeito neurotóxico do veneno de *T. serrulatus*, pois ambos causam a liberação de catecolaminas. Ressalta-se, também, a descrição de uma reação inflamatória aguda, com aumento no teor de citocinas pró-inflamatórias, como IL-1, IL-2 e IL-6, interleucinas já relatadas como atuantes na “síndrome do envenenamento escorpiónico” (Meki e El-Dean, 1998; Magalhães et al., 1999; D’Suze et al., 2003; Fukuhara et al., 2003; Petrievich et al., 2007). Supõe-se que o retorno gradativo aos valores iniciais entre 6h e 12h seja condizente com a eliminação do veneno circulante.

Hemograma de cães...

Tabela 6. Valores médios de neutrófilos e linfócitos de cães inoculados com placebo (grupo I) e com veneno de *Tityus serrulatus* (grupo II) em diferentes tempos

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

Médias seguidas por letras maiúsculas distintas diferem entre os grupos (linhas) e seguidas por letras minúsculas distintas diferem entre os tempos (colunas), pelo teste Tukey ($P < 0,05$).

Mesmo com a diferença observada entre os valores médios de linfócitos entre os grupos (Tab. 6), após a inoculação do veneno, os valores encontram-se dentro dos limites de normalidade para cão, segundo Jain (1993). Essa resposta, provavelmente, pode ser atribuída à contração dos vasos linfáticos.

Não foram encontrados basófilos nos esfregaços sanguíneos. As contagens de monócitos e eosinófilos (Tab. 7) não diferiram entre tempos e entre grupos ($P > 0,05$).

Tabela 7. Valores médios de monócitos e eosinófilos de cães inoculados com placebo (grupo I) e com veneno de *Tityus serrulatus* (grupo II) em diferentes tempos

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

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

CONCLUSÕES

O veneno de *Tityus serrulatus* na dose de 250 $\mu\text{g}/\text{kg}$ causa aumento do número de hemácias, hematócrito e hemoglobina, além de leucocitose com neutrofilia em cães, provavelmente devido à ação de catecolaminas.

AGRADECIMENTOS

Agradecimento Especial à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANDRADE, M.V.; CARAMÉZ, M.P.; ABREU, E.M.N.N. et al. Lung compliance, plasma electrolyte levels and acid-base balance are affected by scorpion envenomation in anesthetized rats under mechanical ventilation. *Comp. Biochem. Physiol., Part C*, v.138, p.97-104, 2004.
- BERTAZZI, D.T.; ASSIS-PANDOCHI, A.I.; SEIXAS, A.E.C. et al. Effects of *Tityus serrulatus* scorpion venom and its major toxin, TsTX-I, on the complement system in vivo. *Toxicon*, v.41, p.501-508, 2003.
- BUCARETCHI, F.; BARACAT, C.E.; NOGUEIRA, R.J.N. A comparative study of

- severe scorpion envenomation in children caused by *Tityus bahiensis* and *Tityus serrulatus*. *Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo*, v.37, p.331-336, 1995.
- BÜCHERL W. Escorpionismo no Brasil. *Mem. Inst. Butantan*, v.34, p.9-24, 1969.
- CAMPOLINA, D. *Georreferenciamento e estudo clínico-epidemiológico dos acidentes escorpiônicos atendidos em Belo Horizonte, no Serviço de Toxicologia de Minas Gerais*. 2006. 127f. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Medicina, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.
- CORDEIRO, F.F.; SAKATE, M.; FERNANDES V. et al. Clinical and cardiovascular alterations produced by scorpions envenomation in dogs. *J. Venom. Anim. Toxins*, v.12, p.19-43, 2006.
- CUPO, P.; AZEVEDO-MARQUES, M.M.; HERING, S.E. Escorpionismo. In: CARDOSO, J.L.C.; FRANÇA, F.O.S.; FAN, H.W. et al. *Animais peçonhentos no Brasil: Biologia clínica e terapêutica dos acidentes*. São Paulo: Salvier, 2003. p.198-208.
- CUPO, P.; HERING, S.E. Cardiac troponin I release after severe scorpion envenoming by *Tityus serrulatus*. *Toxicon*, v.40, p.823-830, 2002.
- DODDS, W.J. Hemostasis. In: KANEKO, J.J.; HARVEY, J.W.; BRUSS, M.L. *Clinical biochemistry of domestic animals*. 5.ed. San Diego: Academic Press, 1997. p.241-283.
- D'SUZE, G.; MONCADA, S.; GONZÁLEZ, C. et al. Relationship between plasmatic levels of various cytokines, tumour necrosis factor, enzymes, glucose and venom concentration following *Tityus* scorpion sting. *Toxicon*, v.41, p.367-375, 2003.
- EL-ASMAR, M.F. Metabolic effect of scorpion venom. In: TU, A.T (Ed). *Handbook of natural toxins, insects, poisons, allergens and other invertebrate venoms*. New York: Marcel Dekker, 1984. v.2, p.551-575.
- FAGLIARI, J.J.; PASSIPIERI, M.; OKUDA, H.T. et al. Serum protein concentrations including acute phase proteins, in calves with hepatogenous photosensibilization. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.59, p.1355-1358, 2007.
- FAGLIARI, J.J.; SILVA, S.L.; SILVA, P.C. et al. Leucograma e teores plasmáticos de proteínas de fase aguda portadores de abdomen agudo e submetidos à laparotomia. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.60, p.322-328, 2008.
- FUKUHARA, Y.D.M.; REIS, M.L.; DELLALIBERA-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, p.49-55, 2003.
- GAZARIAN, K.G.; GAZARIAN, T.; HERNÁNDEZ, R. et al. Immunology of scorpion toxins and perspectives for generation of anti-venom vaccines. *Vaccine*, v.23, p.3357-3368, 2005.
- ISMAIL, M. The scorpion envenoming syndrome. *Toxicon*, v.33, p.825-858, 1995.
- JAIN, N.C. *Essentials of veterinary hematology*. Philadelphia: Lea & Febiger. 1993. 417p.
- LONGENECKER, G.L.; LONGENECKER, H.E. *Centruroides sculpturatus* venom and platelet reactivity: possible role in scorpion venom induced defibrination syndrome. *Toxicon*, v.19, p.153-157, 1981.
- MAGALHÃES, M.M.; PEREIRA, M.E.S.; AMARAL, C.F.S. et al. Serum levels of cytokines in patients envenomed by *Tityus serrulatus* scorpion sting. *Toxicon*, v.37, p.1155-1164, 1999.
- MANUAL de diagnóstico e tratamento de acidentes por animais peçonhentos. Brasília: Fundação Nacional da Saúde, 2001. 120p.
- MEKI, A.R.M.A.; EL-DEAN, Z.M.M. Serum interleukin-1 β , interleukin-6, nitric oxide and α 1-antitrypsin in scorpion envenomed children. *Toxicon*, v.36, p.1851-1859, 1998.
- OLIVEIRA, N.J.F.; MELO, M.M.; LARA, E.R. et al. Perfil clínico e imunológico de bovinos experimentalmente inoculados com veneno bruto e iodado de *B. alternatus*. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.59, p.569-576, 2007.
- PETRICEVICH, V.L.; CRUZ, A.H.; CORONAS, F.I.V. et al. Toxin gamma from *Tityus serrulatus* scorpion venom play an essential role in immunomodulation of macrophages. *Toxicon*, v.50, p.666-675, 2007.
- SAMPAIO, I.B.M. *Estatística aplicada à experimentação animal*. 3.ed. Belo Horizonte:

Hemograma de cães...

Fundação de Ensino e Pesquisa em Medicina Veterinária e Zootecnia, 2007. 264p.

SAQUETTI, C.H.C.; FALEIROS, R.R., MARCORIS, D.G. et al. Perfil eletroforético do proteinograma sérico de equinos com obstrução experimental do cólon menor. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.60, p.794-799, 2008.

SISTEMA de análises estatísticas e genéticas - SAEG. Versão 8.0. Viçosa: UFV, 1998.

SOARES, M.R.M.; AZEVEDO, C.S.; MARIA, M. Escorpionismo em Belo Horizonte, MG: um estudo retrospectivo. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.*, v.35, p.359-363, 2002.

TARASIUK, A.; SOFER, S. Effects of adrenergic-receptor blockade and ligation of spleen vessels on the hemodynamics of dogs injected with scorpion venom. *Crit. Care Med.*, v.25, p.365-372, 1999.