

JOÃO ANNÍBAL MILANO PEIXOTO QUEIROZ

**AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DO EXERCÍCIO FÍSICO SOBRE A
PRODUÇÃO DE ANTICORPOS EM ANIMAIS INOCULADOS
COM VENENO DO ESCORPIÃO *Tityus serrulatus***

Tese de Doutorado apresentado ao programa de Pós-Graduação, em Ciências da Saúde da Universidade do Extremo Sul Catarinense-UNESC para obtenção do título de Doutor em Ciências de Saúde.

Orientador: Dr. Ricardo Andrez Machado de Ávila.

**CRICIÚMA
2022**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação

Q3a Queiroz, João Anníbal Milano Peixoto.

Avaliação dos efeitos do exercício físico sobre a produção de anticorpos em animais inoculados com veneno do escorpião *Tityus serrulatus* / João Anníbal Milano Peixoto Queiroz. - 2022.

69 p.: il.

Tese (Doutorado) - Universidade do Extremo Sul Catarinense, Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Criciúma, 2022.

Orientação: Ricardo Andrez Machado de Ávila.

1. Exercícios físicos - Aspectos fisiológicos. 2. Produção de anticorpos. 3. Escorpião - Veneno. 4. Antivenenos. I. Título.

CDD. 22. ed. 612.044



UNIVERSIDADE DO EXTREMO SUL CATARINENSE – UNESC

**PRÓ-REITORIA ACADÊMICA - PROACAD
DIRETORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO**

**Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde (Mestrado e
Doutorado)**

**Recomendado pela CAPES – Homologado pelo CNE – Portaria Nº
609 de 14.03.2019**

PARECER

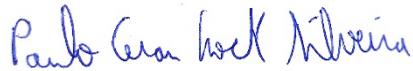
Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado de Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde (Mestrado e Doutorado) reuniram-se para realizar a arguição da Tese de DOUTORADO apresentada pelo candidato João Anníbal Milano Peixoto Queiroz, sob o título “AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DO EXERCÍCIO FÍSICO SOBRE A PRODUÇÃO DE SOROS ANTIESCORPIÔNICOS EM ANIMAIS INOCULADOS COM VENENO DO ESCORPIÃO *Tityus serrulatus*”, do Curso de Pós-graduação em Ciências da Saúde da Universidade do Extremo Sul Catarinense – UNESC.

Após haver analisado o referido trabalho e arguido o candidato, os membros são de parecer pela “APROVAÇÃO” da Tese.

Criciúma, SC, 07 de dezembro de 2021.

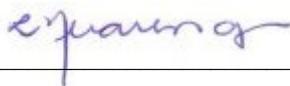
Prof. Dr. EMILIO LUIZ STRECK

Membro Relator – UNESC



Prof. Dr. PAULO CESAR LOCK SILVEIRA

Membro Interno – UNESC



Profa. Dra. LARISSA MAGALHÃES ALVARENGA

Membro Externo – UFPR



Profa. Dra. CLARA GUERRA DUARTE

Membro Externo – FUNED



Prof. Dr. Ricardo A. Machado de Ávila **Prof. Dr. Emilio Luiz Streck**

Orientador

Coordenador do PPGCS



UNIVERSIDADE DO EXTREMO SUL CATARINENSE – UNESC

PRÓ-REITORIA ACADÊMICA - PROACAD

DIRETORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO

**Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde (Mestrado e
Doutorado)**

**Recomendado pela CAPES – Homologado pelo CNE – Portaria Nº
609 de 14.03.2019**

ATA DA 140ª DEFESA DE TESE

Ata da Defesa Pública da Tese de Doutorado de João Annibal Milano Peixoto Queiroz. No dia 07 (sete) do mês de dezembro do ano de dois mil e vinte e um às 8h30, reuniram-se via ferramenta digital *Google Meet* os membros da Banca Examinadora, composta pelos (as) senhores(as) professores(as): **Dr. Emilio Luiz Streck** (Membro Relator – UNESC), **Dr. Paulo Cesar Lock Silveira** (Membro Interno – UNESC), **Dra. Larissa Magalhães Alvarenga** (Membro externo – UFPR) e **Dra. Clara Guerra Duarte** (Membro Externo – FUNED), e designados pelo Colegiado de Coordenação, a fim de arguirem a tese de Doutorado de **João Annibal Milano Peixoto Queiroz**, subordinada ao título: **“AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DO EXERCÍCIO FÍSICO SOBRE A PRODUÇÃO DE SOROS ANTIESCORPIÔNICOS EM ANIMAIS INOCULADOS COM VENENO DO ESCORPIÃO *Tityus serrulatus*.”**. Aberta a sessão pelo Presidente da mesma, coube ao candidato, de forma regimental, expor o tema de sua tese, findo o que, dentro do tempo regulamentar, foi questionado pelos membros da Banca Examinadora e, em seguida, procedeu às explicações que se faziam necessárias. Após esse procedimento, a Banca

Examinadora reuniu-se individualmente, para avaliação final do candidato. Retornando à sessão, o Presidente, lendo o Termo de Apresentação de Tese, declarou **João Annibal Milano Peixoto Queiroz** **APROVADO** .

ALTERAÇÕES SUGERIDAS PELA BANCA EXAMINADORA:



Prof. Dr. EMILIO LUIZ STRECK
(Presidente do Colegiado de Coordenação)



Prof. Dr. RICARDO ANDREZ MACHADO DE ÁVILA
(Orientador)

BANCA EXAMINADORA:



Prof. Dr. EMILIO LUIZ STRECK
(Membro Relator - UNESC)



Prof. Dr. PAULO CESAR LOCK SILVEIRA
(Membro Interno – UNESC)

Larissa Magalhães Alvarenga

Profa. Dra. LARISSA MAGALHÃES ALVARENGA
(Membro Externo – UFPR)

Clara Guerra Duarte

Profa. Dra. CLARA GUERRA DUARTE
(Membro Externo – FUNED)

CANDIDATO:

João Annibal Milano Peixoto Queiroz

JOÃO ANNÍBAL MILANO PEIXOTO QUEIROZ

A dissertação foi elaborada seguindo o estilo Vancouver com algumas adaptações descritas nas Resoluções 07/2015 e 08/2015 do PPGCS e será apresentada no formato tradicional. Este trabalho foi realizado nas instalações do Laboratório de Fisiopatologia Experimental e no Centro Experimentação Animal do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade do Extremo Sul Catarinense.

À minha família.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a todas as pessoas que participaram direta ou indiretamente da construção deste trabalho. Em especial, minha família pelo amor e apoio incondicional. Ao Professor Ricardo Andrez, pelos ensinamentos e amizade durante esses anos. Aos meus colegas de laboratório: Nathália, Jéssica, Ellen, Bethina, Mirian, Haylla, Giulia, Mariana, Rahisa e todos os demais que foram fundamentais neste processo. Aos meus amigos e alunos pela compreensão da magnitude do significado deste título para mim. Por fim, agradecimento especial à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), por financiar meus estudos.

*“A educação é a arma mais
poderosa que você pode usar
para mudar o mundo.”
Nelson Mandela*

RESUMO

O escorpionismo é considerado pela Organização Mundial de Saúde um problema de saúde negligenciado ao redor do mundo. Os casos de acidentes envolvendo escorpiões crescem anualmente de maneira exponencial, principalmente nos países do hemisfério sul. A fauna escorpionica é composta por mais de 1500 espécies descritas, sendo que mais de 150 já foram relatadas no Brasil. A espécie *Tityus serrulatus* é responsável pela maioria dos ataques conhecidos no país, pois estes animais estão extremamente adaptados ao meio urbano, apresentam grande capacidade de reprodução e sobrevivem a condições adversas. O veneno deste escorpião possui mais de 100 mil moléculas e as mais conhecidas são: histamina, serotonina, peptídeos, nucleotídeos, aminoácidos, sais, proteases, fosfolipases e neurotoxinas. Os efeitos causados pelo veneno são classificados em leves, moderados, graves e podem até provocar a morte da vítima. Segundo o Ministério da Saúde, o único tratamento preconizado no Brasil contra o escorpionismo é a imunoterapia com soro antiescorpionico. A produção deste soro é baseada em protocolos de 1903, onde cavalos são hiperimunizados com o veneno para uma produção em grande escala de anticorpos. Durante este processo, os animais desenvolvem a sintomatologia promovida pelo envenenamento, vivendo em condições precárias de saúde e com expectativa de vida reduzida. Com o intuito de encontrar alternativas para melhorar as condições de saúde e aumentar a expectativa desses animais, o presente estudo teve como objetivo: avaliar o efeito do exercício físico sobre a produção de anticorpos em camundongos submetidos à imunização com o veneno do escorpião *Tityus serrulatus*. Além disso, foram avaliados marcadores bioquímicos e inflamatórios, parâmetros comportamentais e de sensibilidade à dor e longevidade dos animais. Foram utilizados 32 camundongos machos da espécie C57BL/6, com 28 a 40 dias de idade, divididos aleatoriamente em grupo controle e grupo exercício físico. Todos os animais foram imunizados e tiveram sangue coletado semanalmente durante 10 semanas. Os camundongos do grupo exercício físico realizavam treinamento de natação, 3 vezes por semana. Os resultados mostraram que não houve diferença significativa na produção de anticorpos entre os grupos. Os animais do grupo exercício apresentaram níveis de IL-1 significativamente maiores que os do grupo controle. Na avaliação dos parâmetros bioquímicos, observou-se que o exercício físico promoveu melhoras expressivas nos níveis de glicose, colesterol, TGO e TGP. Os testes de sensibilidade à dor e comportamentais não apresentaram diferença significativa entre os

grupos e os animais que praticaram exercícios apresentaram maior longevidade (20,3 meses) que animais sedentários (17,5 meses). Os resultados indicam que o exercício físico não altera a produção de anticorpos em animais submetidos ao veneno do escorpião *Tityus serrulatus* e os animais que realizaram treinamento físico apresentaram melhores condições de saúde e expectativa de vida.

Palavras-chave: escorpionismo; exercício físico; longevidade; produção de soro; *Tityus serrulatus*.

ABSTRACT

Scorpionism is considered by the World Health Organization as a neglected health problem around the world. The cases of accidents involving scorpions grow exponentially annually, especially in the countries of the southern hemisphere. The Scorpion fauna is composed of more than 1500 described species, and more than 150 have been reported in Brazil. The species *Tityus serrulatus* is responsible for most of the known attacks in the country, as these animals are extremely adapted to the urban environment, have a great capacity for reproduction and survive adverse conditions. The venom of this scorpion has more than 100,000 molecules and the best known are: histamine, serotonin, peptides, nucleotides, amino acids, salts, proteases, phospholipases and neurotoxins. The effects caused by the poison are classified as mild, moderate, severe and can even cause the victim's death. According to the Ministry of Health, the only treatment recommended in Brazil against scorpionism is immunotherapy with antiscorpion serum. The production of this serum is based on 1903 protocols, where horses are hyperimmunized with the venom for large-scale antibody production. During this process, the animals develop the symptoms caused by the poisoning, living in precarious health conditions and with reduced life expectancy. In order to find alternatives to improve the health conditions and increase the expectation of these animals, the present study aimed to: evaluate the effect of physical exercise on the production of antibodies in mice subjected to immunization with the venom of the *Tityus serrulatus* scorpion. In addition, biochemical and inflammatory markers, behavioral parameters and pain sensitivity and longevity of the animals were evaluated. Thirty-two male mice of the species C57BL/6, 28 to 40 days old, were randomly divided into control and exercise groups. All animals were immunized and had blood collected weekly for 10 weeks. The mice in the exercise group performed swimming training 3 times a week. The results showed that there was no significant difference in the production of antibodies between the groups. The animals in the exercise group had significantly higher IL-1 levels than those in the control group. In the evaluation of biochemical parameters, it was observed that physical exercise promoted expressive improvements in the levels of glucose, cholesterol, TGO and TGP. Pain sensitivity and behavioral tests did not show significant differences between groups and animals that practiced exercise had greater longevity (20.3 month) than sedentary animals (17.5 month). The results indicate that physical exercise does not alter the production of antibodies in animals submitted to the venom of the *Tityus*

serrulatus scorpion and the animals that underwent physical training showed better health conditions and life expectancy.

Keywords: longevity; physical exercise; serum production; scorpionism; *Tityus serrulatus*.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	25
1.1 ESCORPIÃO	25
1.2 ESCORPIONISMO	29
1.2.1 Veneno	30
1.2.2 Sintomatologia	31
1.3 TRATAMENTO	32
1.3.1 Produção de Imunoglobulina	33
1.3.2 Soro Antiescorpionico	35
1.4 EXERCÍCIO FÍSICO	37
1.5 JUSTIFICATIVA	39
2 OBJETIVOS	41
2.1 OBJETIVO GERAL	41
2.1.1 Objetivos específicos	41
3 MATERIAL E MÉTODOS	43
3.1 VENENO	43
3.2 ANIMAIS E COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA	43
3.3 POPULAÇÃO E AMOSTRA	43
3.4 DESENHO EXPERIMENTAL	44
3.5 IMUNIZAÇÕES E COLETAS DE SANGUE	45
3.6 TREINAMENTO FÍSICO	45
3.7 ELISA	46
3.8 TESTES DE SENSIBILIDADE À DOR E COMPORTAMENTAIS	46
3.8.1 Campo aberto	46
3.8.2 Teste de hiperalgesia mecânica – Von Frey	46
3.9 AVALIAÇÃO DE PARÂMETROS BIOQUÍMICOS	47
3.10 AVALIAÇÃO DE PARÂMETROS INFLAMATÓRIOS	47
3.11 ANÁLISE ESTATÍSTICA	47
4 RESULTADOS	49
4.1 PRODUÇÃO DE ANTICORPOS	49
4.2 PARÂMETROS INFLAMATÓRIOS	49
4.3 TESTE DE CAMPO ABERTO	50
4.4 TESTE DE HIPERALGESIA MECÂNICA - VON FREY	51
4.5 PESO CORPORAL	52
4.6 LONGEVIDADE DOS ANIMAIS E AVALIAÇÕES BIOQUÍMICAS	52
5 DISCUSSÃO	55
6 CONCLUSÃO	69
REFERÊNCIAS	71

ANEXO A	85
ANEXO B	87
ANEXO B	89

1 INTRODUÇÃO

1.1 ESCORPIÃO

Os escorpiões são considerados animais pré-históricos e vivem na Terra há aproximadamente 450 milhões de anos. Diferentemente da grande maioria de outras espécies vivas, estes animais apresentam uma morfologia conservada, com uma anatomia sem maiores evoluções em relação aos primeiros relatos (Mendes, 2012). Além desta anatomia, fatores metabólicos, fisiológicos, ecológicos e comportamentais transformam os escorpiões em animais com grande capacidade de adaptação aos mais diferentes tipos de habitats terrestres, tais como: desertos, florestas tropicais, equatoriais, temperadas, savanas, montanhas com neve e cavernas (Lourenço, 2001).

Os escorpiões são artrópodes quelicerados, pertencentes à classe Arachnida da ordem Scorpionidae (Marcussi et al., 2011). A fauna escorpiônica já possui mais de 1500 espécies descritas, segundo Prendini e Wheeler (2005), destas, aproximadamente 160 foram relatadas no Brasil (Brasil, 2009). A classificação dos escorpiões pode ser observada através da tabela a seguir:

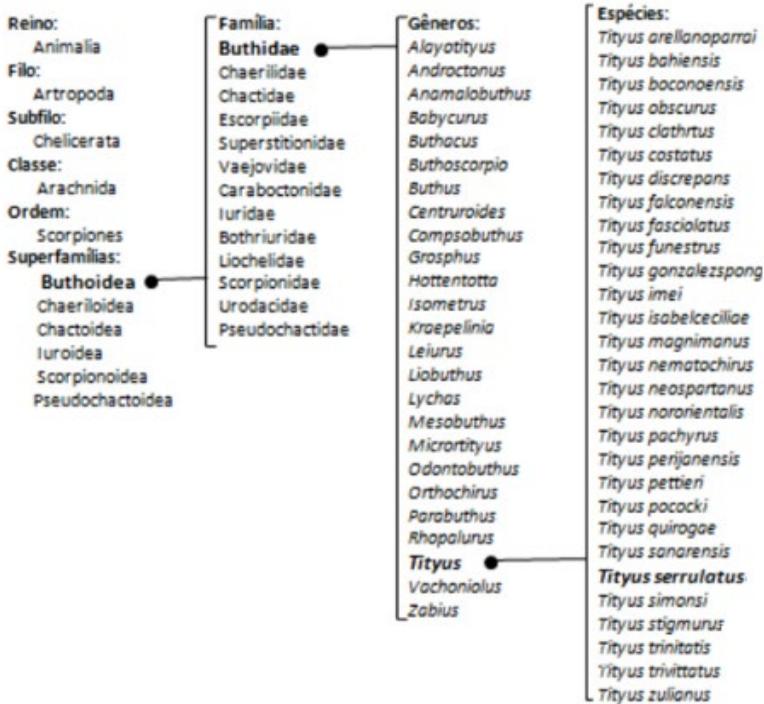


Tabela 1. Classificação dos escorpiões (Mendes, 2012).

A morfologia do escorpião é dividida em: carapaça (prossoma) onde estão inseridas duas quelíceras (utilizadas para trituração de alimentos), dois pedipalpos (pinças ou mãos) e quatro pares de pernas; abdômen (opistossoma), constituído por: tronco (mesossoma) onde, na face ventral, se encontram o opérculo genital e os apêndices sensoriais em forma de pentes que permitem a captação de estímulos mecânicos e químicos externos, além de espiráculos que são aberturas externas dos pulmões; cauda (metassoma) que apresenta um artigo chamado telson em sua extremidade, que termina em um ferrão usado para inocular sua peçonha; o telson contém um par de glândulas produtoras de veneno que desembocam em dois orifícios situados de cada lado da ponta do ferrão (Brasil, 2009).

As espécies consideradas mais perigosas aos seres humanos pertencem à família Buthidae e a maior parte dos acidentes de maior gravidade no país está associada à espécie *Tityus serrulatus*. Esta espécie recebeu tal denominação em virtude de uma serrilha localizada nos anéis da cauda.

Estes animais medem até 7cm de comprimento e possuem as pernas e cauda amareladas e o tronco mais escuro. A espécie é popularmente conhecida como “escorpião amarelo” (Figura 1) e foi descrita pela primeira vez por Lutz e Mello em 1922 (Lourenço, 2016).



Figura 1. Espécie *Tityus serrulatus* (Brasil, 2009).

A reprodução destes animais é partenogenética, onde cada fêmea gera dois partos anuais, com média de 20 filhotes cada (Figura 2). Estima-se que as mães consigam promover o nascimento de aproximadamente 160 filhotes durante a vida (Brasil, 2009).



Figura 2. Fêmea da espécie *Tityus serrulatus* com os filhotes no dorso (BRASIL, 2009).

Atualmente, os animais encontram-se muito bem adaptados ao meio urbano. A partir das ações antrópicas que diminuíram seu habitat natural, os escorpiões encontram facilmente: esconderijos (pedras, troncos, tijolos, telhas etc.) e comida (por serem carnívoros, se alimentam de pequenos insetos, grilos e baratas). Soma-se a isso a falta de predadores naturais, que facilita ainda mais a adaptação e procriação da espécie (Brasil, 2009; Reckziegel e Junior, 2014; De Paula et al., 2020). Além de tudo, um estudo recente realizado por Pimenta e colaboradores (2019) mostrou que o *Tityus serrulatus* consegue sobreviver por aproximadamente 400 dias sob privação de alimentos e se reproduzir em 209 dias nas mesmas condições.

Inicialmente associada ao estado de Minas Gerais (Lourenço et al., 1996), a distribuição geográfica do habitat deste animal engloba uma extensa faixa de estados brasileiros, que vai do Ceará ao Rio Grande do Sul, como mostra Figura 3 (Lara, 2012).

escorpionismo é desconhecida e provavelmente subestimada, dado que uma grande parcela de acidentados não busca atendimento especializado, especialmente nas áreas rurais (Duarte, 2011).

1.2.1 Veneno

Os venenos escorpiônicos são conjuntos complexos de inúmeras substâncias geradas por glândulas seromucosas e incutidas através do ferrão, como estratégia de defesa e para capturar presas, que tem o objetivo de comprometer o organismo atingido (Duarte, 2011). Os escorpiões, de maneira geral, são capazes de injetar entre 0,1ml e 0,9ml de veneno em suas vítimas a cada ferroada (Van der Meijden et al., 2015).

A composição do veneno é diferente entre os animais e tem como principais fatores de modificação os hábitos, alimentação e habitat de cada escorpião (Galvani et al., 2017). Em função da baixa concentração no veneno e do pouco material biológico, a caracterização completa do veneno é prejudicada. Contudo, estima-se que mais de 100 mil moléculas estejam presentes no veneno do escorpião *Tityus serrulatus* e as mais conhecidas são: histamina, serotonina, peptídeos, nucleotídeos, aminoácidos, sais, proteases, fosfolipases e neurotoxinas (Cocchi, 2016). Ainda conforme o autor, por mais que haja uma enorme quantidade de moléculas com atividades biológicas importantes, as neurotoxinas são consideradas as principais responsáveis pelo desenvolvimento da sintomatologia do veneno escorpiônico.

As neurotoxinas são proteínas de baixo peso molecular, de características tóxicas que atuam em canais iônicos seletivos. De maneira geral, essas moléculas interagem com canais para sódio (Na), potássio (K), cálcio (Ca) e cloro (Cl) e alteram a permeabilidade iônica das células excitáveis. Este processo resulta na alteração dos mecanismos de ativação dos canais, promovendo uma intensa despolarização e liberação exacerbada de neurotransmissores (Ismail, 1995). Estas ligações específicas resultam em uma série de efeitos nas células, como: contração, secreção, proliferação e apoptose (Santos-da-Silva et al., 2017).

A ação das neurotoxinas no sistema imunológico desencadeia a quebra da homeostase e por consequência um completo desequilíbrio do organismo atingido. Além da liberação de mediadores que atuam no sistema nervoso autônomo, nosso grupo mostrou que há evidências indicando que o veneno consegue romper a barreira hematoencefálica

e atingir o sistema nervoso central e promover alterações no DNA (Galvani et al., 2017).

1.2.2 Sintomatologia

As manifestações clínicas apresentadas por vítimas de escorpionismo são geralmente atribuídas à liberação de neurotransmissores, em especial a catecolamina, a acetilcolina e noradrenalina das terminações nervosas pós-ganglionares, e adrenalina pela medula adrenal (Ismail, 1995; Cusinato et al., 2010). O desenvolvimento de uma sintomatologia mais branda ou mais severa em um acidente escorpiônico depende diretamente da quantidade de veneno inoculado, quantidade de picadas, tamanho do animal e de características da vítima, tais quais: sexo, idade, status imunológico e contatos anteriores com o veneno (Padilla et al., 2003; Soares et al., 2012). O Ministério da Saúde classifica os acidentes conforme a gravidade, de acordo com a tabela abaixo:

Classificação	Manifestações clínicas
Leves	Somente presentes sinais e sintomas locais. Dor em 100% dos casos.
Moderados	Sintomatologia local e alguns sintomas sistêmicos, como: agitação, sonolência, sudorese, náuseas, poucos vômitos, hipertensão arterial, taquicardia e taquipneia.
Graves	Sinais e sintomas locais e sistêmicos; vômitos profusos e frequentes; náuseas, sialorreia, lacrimejamento, sudorese profusa, agitação, alteração da temperatura corporal, taquicardia, hipertensão arterial, taquipneia, tremores, espasmos musculares, paralisias e convulsão; pode evoluir para bradicardia, bradpneia, edema pulmonar agudo, colapso cardiocirculatório, coma e até morte.

Tabela 2. Classificação da gravidade de acidentes escorpiônicos (Brasil, 2001)
O escorpião injeta seu veneno na camada subcutânea e intradérmica da vítima e este vai para a circulação sanguínea, sendo absorvido em poucas horas. Em casos considerados leves, o paciente apresenta quadro

de dor local, edema, náusea, vômito, dores abdominais, febre, priapismo e hiperglicemia. Já em casos mais graves, há a possibilidade de complicações cardíacas, pulmonares, gastrointestinais, metabólicas e distúrbios neurológicos (Bucarechi et al., 2014; Santos et al., 2016). Em acidentes com escorpiões, também são observadas algumas alterações sanguíneas. Há evidências que indicam leucocitose com neutrofilia em estudos realizados em cães (Ribeiro et al., 2009) e em ratos (Pinto et al., 2010) imunizados com o veneno do escorpião *Tityus serrulatus*. A principal justificativa para tal efeito é a liberação exacerbada de adrenalina causada pela dor, gerando um desprendimento dos leucócitos do pool marginal dos vasos sanguíneos (Thrall, 2007). Os níveis de glicose, ademais, sofrem alterações advindas do veneno escorpiônico e são observados imediatamente após a inoculação. O aumento da glicemia por meio da gliconeogênese promove grandes níveis de estresse, que levam ao aumento do nível de glicocorticoides, como o cortisol. Corroborando com essas informações, a hiperglicemia é considerada uma das principais consequências dos acidentes, com efeitos diretos no pâncreas, tecido adiposo e fígado (Murthy e Haghazari, 1999; Cunningham, 2004).

Na literatura, estima-se que aproximadamente 1% a 2% dos ataques de escorpião evoluem ao óbito e em sua maioria são de rápida evolução, em decorrência principalmente de convulsões, lesões cardíacas, insuficiência cardiorrespiratória, coma, edemas pulmonares agudos e hipotensão (Campolina, 2006). Os riscos são considerados dependentes da idade, onde idosos e menores de 9 anos apresentam um risco de morte 48% maior que as demais populações (Lourenço, 1996; Guerra et al., 2008).

1.3 TRATAMENTO

O Ministério da Saúde classifica os acidentes com escorpião em prováveis e confirmados. Quando há a probabilidade de um envenenamento, o paciente deve ser mantido em observação por até 4 horas e em caso de evolução clínica sem envenenamento, o indivíduo recebe alta. Caso haja uma evolução com envenenamento, deve-se seguir o protocolo de tratamento para acidentes confirmados (Brasil, 2017). Em situações de acidentes leves, o paciente é mantido em observação por 6 horas, recebe analgésicos, compressa quente e bloqueio anestésico local. Já nos casos moderados, há internação, seguida por analgésicos, compressa quente, bloqueio anestésico local e a também a administração de 3 ampolas de soro antiescorpiônico. Por fim, os pacientes que apresentam estado de

envenenamento grave devem ser internados e monitorados de forma contínua. Além dos cuidados de terapia intensiva, o tratamento segue os mesmos protocolos dos acidentes moderados, porém com administração de 6 ampolas de soro. O único tratamento preconizado no Brasil contra o escorpionismo é a imunoterapia com soro antiescorpionico (SAEs), onde o soro com anticorpos específicos deve ser administrado por via intravenosa imediatamente após o envenenamento para obtenção de sua máxima eficácia (Brasil, 2017).

1.3.1 Produção de Imunoglobulina

Os anticorpos, coletivamente conhecidos como imunoglobulinas, são glicoproteínas capazes de reconhecer, neutralizar e opsonizar antígenos de maneira específica, com grande afinidade, para que eles sejam eliminados do organismo (Alberts et al, 1995). A especificidade dos anticorpos é decorrente de sua estrutura. De maneira geral, todos os anticorpos compactuam de características estruturais básicas, contudo, apresentam grande variabilidade nas regiões de ligação com os antígenos (Abbas et al., 2015).

As imunoglobulinas são compostas, basicamente, por quatro subunidades ligadas entre si através de quatro pontes dissulfeto. As subunidades podem ser divididas em duas cadeias pesadas e duas cadeias leves (Figura 4). O sítio de reconhecimento de antígenos, também chamado de paratopo, é o local que determina a especificidade do anticorpo e a sua grande variabilidade é capaz de promover a ligação de diferentes anticorpos a diferentes tipos de antígenos (Lenz, 2004).

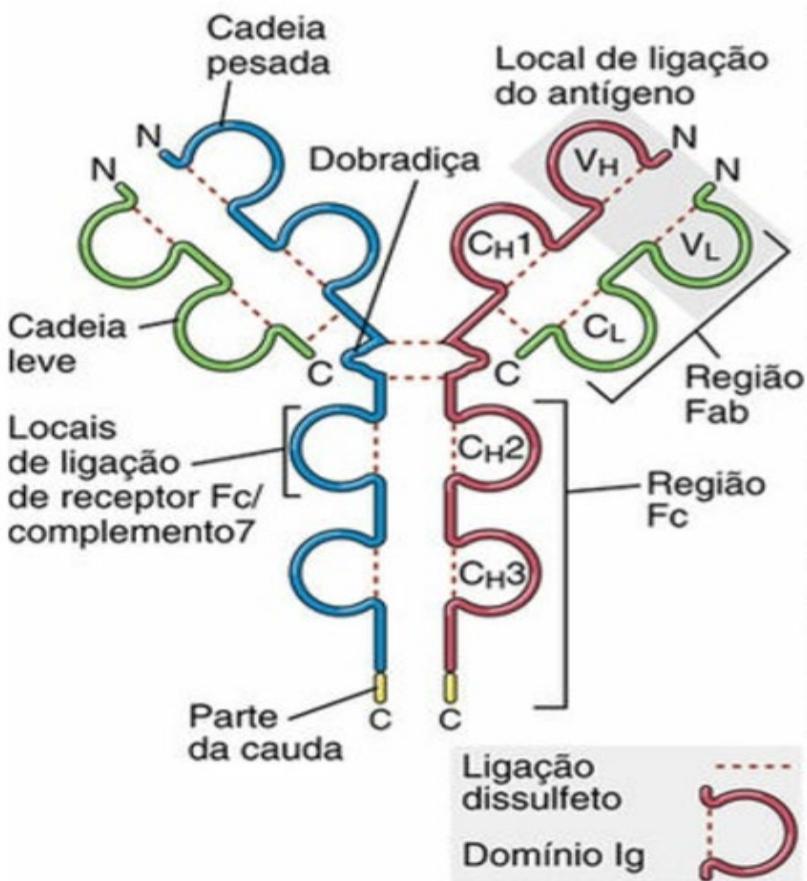


Figura 4. Estrutura básica de um anticorpo (Silva, 2014).

A produção de anticorpos (ilustrada na Figura 5) inicia-se a partir da exposição a um antígeno. Antígeno é caracterizado como qualquer espécie molecular, que quando introduzida em um organismo vertebrado, promove um tipo de resposta imune (Abbas, 2015). A partir do momento que um antígeno invade o organismo, um linfócito-B apresenta um anticorpo específico, que reconhecerá o agente invasor. Após o reconhecimento, o antígeno se liga ao anticorpo, promovendo a ativação do linfócito-B. Logo, o linfócito-B vai se multiplicar por meio de clonagem, gerando um processo chamado diferenciação. A diferenciação gera dois tipos de células, os plasmócitos e células de memória. Os plasmócitos produzem e liberam uma quantidade elevada de anticorpos específicos para combater o antígeno em questão.

Paralelamente a isso, as células de memória também são produzidas a partir do processo de diferenciação e são caracterizadas por apresentarem anticorpos específicos na sua superfície de membrana. A principal função dessas células é a capacidade de clonagem para a produção de novos plasmócitos e células de memória. A grande quantidade de células de memória indica a imunização do organismo ao antígeno equivalente (Abbas, 2015).

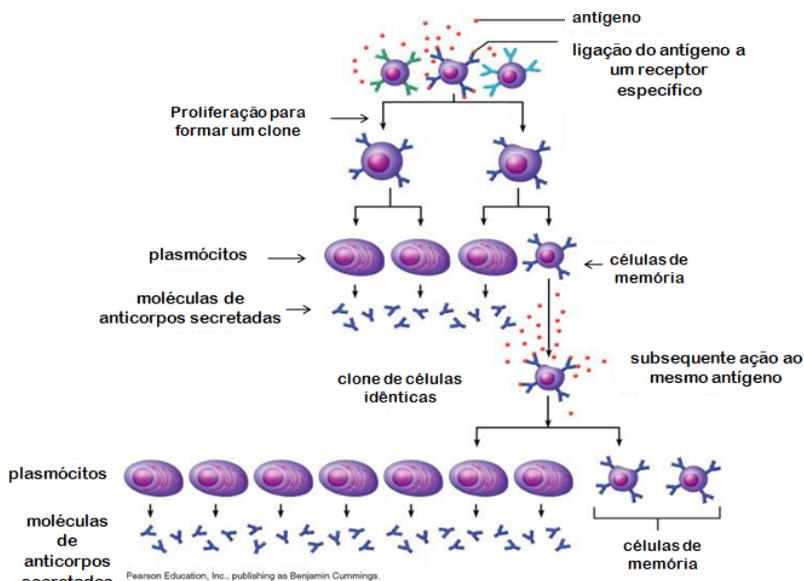


Figura 5. Produção de anticorpos. Figura adaptada (Campbell, Reece, 2005).

1.3.2 Soro Antiescorpiônico

O processo de produção de soros específicos para animais peçonhentos data do final do século XIX e foi inicialmente descrito por Calmette, Phisalix e Bertrand. Os pesquisadores perceberam a existência da produção de anticorpos neutralizantes de peçonhas em animais que receberam toxinas como imunógenos (Espino-Solis et al., 2005). Todos os animais vertebrados estão aptos a produção de soro através de imunização, contudo coelhos, galinhas e ratos são mais comumente utilizados nesta prática. Além destes animais, os cavalos também são utilizados na produção de soro, pois proporcionam uma maior resposta ao estímulo e altas quantidades de sangue. Soma-se a isso à fácil adaptação a diferentes tipos de clima, facilidade de manuseio e

contenção durante a sangria. Em contrapartida, são animais que não tem disponibilidade em larga escala e possuem altos custos que podem inviabilizar sua aquisição e manutenção (Gibbs e Harrison, 1976; Ball et al., 1990; Sjoström et al., 1994).

No Brasil, a produção de soros segue métodos descritos por Vital Brazil em 1903 e consiste na aplicação do veneno em animais de grande porte (cavalos). O soro antiescorpiônico é constituído por uma solução de imunoglobulinas específicas, purificadas e concentradas, obtidas a partir dos soros dos animais hiperimunizados com venenos de escorpiões do gênero *Tityus* (Soros, 2012).

Inicialmente o antígeno é preparado por meio da dissolução do veneno em solução salina e na primeira e segunda dose são acrescentados os adjuvantes completos e incompletos de Freund, respectivamente. Os reforços seguintes são inoculados com intervalos de 21 dias (com adjuvantes) e 7 dias (sem adjuvantes) diluídos apenas em salina. Novas imunizações iniciam 30 dias após a última sangria do animal e os equinos que demonstrarem títulos adequados são sangrados em 3 dias consecutivos, gerando um volume de sangue entre 15 e 18 litros. A coleta de sangue é realizada em um sistema extrator fechado com a presença de anticoagulante. O plasma é separado e as hemácias ressuspendidas em solução salina e introduzidas novamente nos animais (De Araújo, 2008).

A partir disso, o soro é purificado pela precipitação do plasma hiperimune por sulfato de amônio, separando as imunoglobulinas da albumina e outras proteínas séricas. Na sequência há o fracionamento enzimático, no qual a digestão pela pepsina cliva a IgG em fragmentos - F(ab')₂ e Fc e pela coagulação, que elimina Fc e separa as proteínas termolábeis, como o fibrinogênio, pela incubação a 56°C. O sulfato de amônio é removido por soro de diálise (De Araújo, 2008). Então, este soro purificado é concentrado por meio de ultrafiltração molecular e exposto à filtração clarificante e esterilizante. Após, é estocado entre 2°C e 8°C e submetido a testes de controle de qualidade. Ao término dos testes, há a formulação do soro, onde ele é diluído para alcançar o título esperado e adicionado o conservante (fenol), isotonzado, tem o pH regulado entre 6 e 7 e submetido novamente a uma filtração esterilizante (De Araújo, 2008).

Por fim, o soro é finalizado a granel e ressubmetido ao protocolo de controle de qualidade previsto pela Farmacopeia Brasileira (teor de: cloreto de sódio, fenol, nitrogênio, proteínas, sólidos totais, sulfato de amônio, teste de esterilidade e potência) (Brasil, 2004). O próximo passo é o envase, que começa imediatamente após a liberação do

produto a granel. Assim que ocorre o envase, o lote final passa pelos mesmos testes de qualidade para enfim ser liberado para a população (De Araújo, 2008).

Em contrapartida, a produção deste antiveneno faz com que os cavalos desenvolvam a sintomatologia do veneno. Esta espécie apresenta uma poderosa resposta imune mediada por células que por muitas vezes desenvolvem a formação de grandes abscessos no local de aplicação (Sjostrom et al., 1994). Além do mais, o processo de imunização dos animais com o veneno do *Tityus serrulatus* provoca uma série de efeitos tóxicos extremamente nocivos, ocasionando danos nos sistemas respiratório, neuromuscular e cardiovascular. Por consequência, há também um aumento no número de mortes precoces dos cavalos (Machado-de Ávila et al., 2004). Há evidências que mostram que a produção de soro requer altos custos para a manutenção dos animais (Mendes, 2007), diminuindo em 70% a estimativa de vida e a debilidade dos equinos limita a produção de anticorpos e conseqüentemente a potência do antiveneno (Machado-de Ávila et al., 2004; Ferreira et al., 2006; Duarte, 2007).

1.4 EXERCÍCIO FÍSICO

O exercício físico é uma ferramenta não farmacológica utilizada na prevenção e tratamento de diversos tipos de doenças e na melhora da qualidade de vida. Os benefícios da prática regular estão associados a uma melhora no quadro cardiorrespiratório (van Leeuwen et al., 2013); menor risco do desenvolvimento de doenças cardiovasculares (Haskell et al., 2007); melhora no controle glicêmico (Llopis e Reig Garcia-Galbis, 2015); diminuição da gordura visceral, melhora no quadro de resistência à insulina e diabetes (Colberg et al., 2016); melhora na percepção de qualidade de vida (Sagun et al., 2014); diminuição no quadro inflamatório e prevenção de doenças reumáticas (Bennati e Pedersen, 2015) e, inclusive, alguns tipos de câncer (Hojman et al., 2018).

A prática regular de exercícios físicos apresenta uma vasta gama de benefícios ao sistema cardiovascular. Além de reduzir fatores de desenvolvimento de riscos de doenças cardiovasculares, auxilia na regulação da pressão arterial e desenvolve melhora na função do coração em pacientes com insuficiência cardíaca. Portanto, o exercício físico é considerado um dos principais promotores de prevenção e tratamento de doenças cardiovasculares (Wang et al., 2020). Neste sistema, observa-se dois tipos de adaptações: agudas e crônicas. Sabe-

se que imediatamente após uma sessão de exercício, adaptações cardiovasculares são observadas. Durante a prática, há o aumento da frequência cardíaca e do volume de ejeção e um consequente aumento no débito cardíaco. Isso ocorre a partir da maior demanda energética do sistema musculoesquelético. Ademais, há um aumento da pressão arterial sistólica durante e imediatamente após o exercício (Mcardle et al., 2011).

A regularidade na realização de exercícios físicos promove adaptações crônicas do sistema cardiovascular. A partir dos estímulos consecutivos, há um aumento na capacidade do coração, que armazena mais sangue e apresenta um volume de ejeção de sangue maior. Com isso, há uma diminuição na frequência cardíaca e estabilização da pressão arterial em repouso e durante o exercício, promovendo um efeito protetor ao órgão (Xiao, 2020). Além disso, o exercício físico promove uma hipertrofia dos músculos do sistema cardiopulmonar, que está associada a um menor risco de insuficiência cardíaca, uma das principais causas de edema pulmonar (Mcardle et al., 2011).

O treinamento físico promove também um papel extremamente importante no metabolismo da glicose. Sabe-se que o exercício físico promove de forma aguda e crônica uma melhor captação muscular de glicose. Estes resultados são decorrentes de uma maior translocação do GLUT4, principal transportador de glicose. Estudos mostram que indivíduos fisicamente ativos apresentam menores riscos do desenvolvimento de hiperglicemia e resistência à insulina (Pauli et al., 2009).

No sistema imunológico, os benefícios do exercício físico parecem ser dependentes do tipo, duração e intensidade. De maneira geral, as adaptações desse sistema também ocorrem de maneira aguda e crônica. Imediatamente após a realização do exercício físico, observa-se um aumento em células da imunidade inata, com ênfase no número de neutrófilos circulantes. Seus níveis são pelo menos três vezes maiores ao término da atividade e podem chegar a cinco, depois de três horas. Dependendo da intensidade do exercício, os níveis se restabelecem entre 06 e 24 horas após o estímulo (Walsh et al., 2011). Já as respostas crônicas ainda não estão completamente elucidadas e parecem estar muito relacionadas ao tipo de exercício e à intensidade. Há relatos de alteração da contagem de neutrófilos (Ihalainen et al., 2014) e estudos que não apresentaram alteração na contagem de neutrófilos circulantes (Kraemer, et al., 1996). Corroborando com estes números, são observados aumentos no número de células dendríticas (Deckx et al.,

2015), no número de monócitos inflamatórios (Simpson et al., 2009) após a realização de exercícios físicos.

O exercício físico também promove alteração no número de macrófagos, de acordo com o tipo e intensidade do treinamento. Atividades de leve a moderada intensidade geram um ambiente levemente inflamatório, aumentando a produção de citocinas pró-inflamatórias (TNF- α , IL-1, IL-6 e IL-8) e por consequência, uma maior ativação de macrófagos. Já os exercícios físicos de alta intensidade acarretam um aumento das citocinas anti-inflamatórias (IL-4, IL-10, TGF- β) para reparar os danos causados ao tecido muscular. Com isso, há a criação de um ambiente anti-inflamatório e a inativação dos macrófagos, resultando em um período de janela imunológica aberta e aumento da suscetibilidade a doenças (Terra et al., 2012; Lopes et al., 2016).

Na literatura não há elucidação sobre o papel do exercício físico sobre a produção de anticorpos. O efeito do exercício físico no sistema imunológico tem sido associado positivamente aos exercícios de baixa e moderada intensidade e negativamente aos exercícios de alta intensidade e longa duração, principalmente em atletas de alto rendimento (Terra et al., 2012; Lopes et al., 2016; Boaes et al., 2017).

1.5 JUSTIFICATIVA

A produção de soro no Brasil, data do início do século passado e, sabe-se que os animais desenvolvem a sintomatologia do veneno e seus efeitos clínicos. Com isso, os cavalos utilizados no processo têm uma significativa redução na qualidade e principalmente na expectativa de vida. A soma desses fatores além de prejudicar a saúde do animal, aumenta consideravelmente os custos da produção e a qualidade do antiveneno. Portanto, faz-se necessário a busca de estratégias para melhorar a qualidade de vida e expectativa de vida dos animais produtores do veneno, sem que haja uma diminuição na qualidade e potência dos anticorpos da produção de soro.

O exercício físico é uma ferramenta não farmacológica, de baixo custo, capaz de promover uma série de benefícios à saúde, dentre elas, prevenção e tratamento de diversos efeitos deletérios provocados pelo veneno do escorpião *Tityus serrulatus*. Além de melhoras no sistema cardiopulmonar, o exercício físico está associado à melhora em parâmetros de qualidade e expectativa de vida. Há indícios de que o exercício físico melhora o sistema imunológico, porém não há informações contundentes sobre sua atuação na produção de anticorpos.

Por isso, o presente trabalho tem como hipótese principal a ideia de que os animais imunizados com o veneno escorpiónico que realizarem exercícios físicos apresentarão melhor saúde e parâmetros de qualidade de vida em relação aos animais do grupo controle, sem que haja alteração na produção de anticorpos.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar o efeito do exercício físico sobre a produção de anticorpos em camundongos submetidos à imunização com o veneno do escorpião *Tityus serrulatus*.

2.1.1 Objetivos específicos

- Avaliar semanalmente a produção de anticorpos específicos em camundongos imunizados com o veneno *Tityus serrulatus* submetidos a um protocolo de exercício físico;
- Avaliar parâmetros relacionados à inflamação em camundongos imunizados com o veneno *Tityus serrulatus* submetidos a um protocolo de exercício físico;
- Analisar semanalmente o comportamento e a sensibilidade à dor dos animais submetidos à imunização com o veneno do escorpião *Tityus serrulatus* submetidos a um protocolo de exercício físico;
- Avaliar o peso corporal dos camundongos imunizados com o veneno *Tityus serrulatus* submetidos a um protocolo de exercício físico;
- Avaliar e comparar a longevidade dos animais submetidos à imunização com o veneno *Tityus serrulatus* submetidos a um protocolo de exercício físico;
- Avaliar marcadores bioquímicos dos animais imunizados com o veneno do escorpião *Tityus serrulatus* submetidos a um protocolo de exercício físico.

3 MATERIAL E MÉTODOS

Os testes e procedimentos técnicos foram realizados conforme padronização sugerida na literatura. A realização dos métodos ocorreu no Laboratório de Fisiopatologia Experimental e no Centro de Experimentação Animal da Universidade do Extremo Sul Catarinense.

3.1 VENENO

O veneno de escorpião da espécie *Tityus serrulatus* e os soros antiescorpiônicos foram cedidos pela Dra. Consuelo La Torre, da Fundação Ezequiel Dias - FUNED, de Belo Horizonte, MG – Brasil. As amostras de veneno são constituídas de um pool de venenos da espécie *Tityus serrulatus* coletados de escorpiões já adultos, da região sudeste do Brasil, que foram devidamente liofilizadas e mantidas em temperatura de 20°C para serem inoculadas nos camundongos, no laboratório.

3.2 ANIMAIS E COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

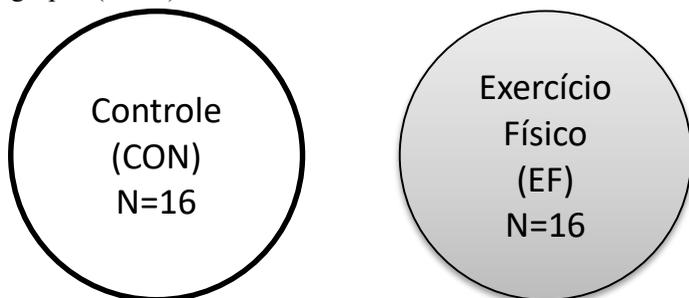
Os experimentos foram conduzidos em machos C57BL/6 com 28-40 dias de idade (N=32), pesando entre 21 e 27g, obtidos no Centro de Experimentação Animal (CEA) da Universidade Extremo Sul Catarinense (UNESC). Os animais foram alojados em gaiolas de polietileno com ciclo claro/escuro de 12h (luzes acesas às 07:00) e livre acesso a ração e água. Os procedimentos experimentais foram realizados de acordo com o comitê de ética local, aprovado o protocolo do estudo sob o número 014/2018-2/UNESC.

3.3 POPULAÇÃO E AMOSTRA

O tamanho da amostra foi definido conforme descrito pela Portaria Nº 174, de 11 de novembro de 1996 da ANVISA e pela Farmacopeia Brasileira 4ª edição, livro, também preconizado pela ANVISA para testes de avaliação da produção e qualidade de um soro hiperimune (antivenenos). A quantidade de animais para cada experimento e o número de grupos são o mínimo necessário para que os resultados apresentem um valor estatístico significativo. Os animais foram divididos aleatoriamente em: grupo controle (N=16) e grupo exercício físico (N=16).

3.4 DESENHO EXPERIMENTAL

O estudo foi composto por 32 camundongos, divididos aleatoriamente em dois grupos (N=16):



Após a divisão dos grupos, os animais foram submetidos à adaptação ao meio aquático, diariamente, durante uma semana. A adaptação consistiu em colocar os camundongos, separadamente, em baldes com lâminas de 5 cm de água, deixando-os por 5 minutos para ambientação ao meio aquático, conforme protocolo adaptado Terada (2001). Após a adaptação, o experimento transcorreu por 10 semanas. Nessas 10 semanas, todos os animais foram submetidos a imunizações do veneno (1x/semana), coletas de sangue (1x/semana), testes de sensibilidade à dor e comportamento (1x/semana) e o grupo EF realizou treinamentos físicos de natação (3x/semana). (Tabela 3)

	Seg.	Terç.	Qua.	Qui.	Sex.	Sáb.	Dom.
Exercício Físico	X		X		X		
Descanso		X		X		X	X
Imunização		X					
Coleta de sangue	X						
Avaliação comportamental				X			

Tabela 3. Cronograma semanal do experimento

3.5 IMUNIZAÇÕES E COLETAS DE SANGUE

Os camundongos foram imunizados, uma vez por semana, recebendo uma dose equivalente a $\frac{1}{4}$ DL₅₀ (1 DL₅₀, dose letal que mata 50% dos

animais desafiados equivale a 1,8mg/kg) do veneno do escorpião *Tityus serrulatus* diluído em adjuvante de Freund e PBS 1x via introdução subcutânea por 10 semanas. Ao final da última semana, os animais tiveram o sangue coletado via retro orbital (50µl por animal) e o soro isolado através de centrifugação a 5000 RPM por 10 minutos, com o intuito de realizar análises de parâmetros bioquímicos e inflamatórios. Em seguida, randomicamente, metade dos animais de cada grupo foi sacrificada e tiveram o músculo gastrocnêmio retirado para análises imunológicas. Os animais remanescentes foram alojados no CEA da UNESC. Um ano depois, os animais tiveram novamente o sangue coletados para nova análises bioquímicas e permaneceram sendo acompanhados até seu óbito natural.

3.6 TREINAMENTO FÍSICO

Nos dias de treinamento físico, os animais foram pesados para a determinação da carga de treino específica de cada protocolo. Após a pesagem, os animais foram inseridos na piscina e permaneceram em uma raia individual com 60cm² e 70cm de profundidade, nadando em um tanque de vidro com temperatura média da água de 28°C. Ao final do treinamento, os animais foram secados e realocados em suas habitações. O treinamento físico seguiu o protocolo de Farias (2012) adaptado, descrito na Tabela 4:

Grupo Exercício Físico			
Semana	Séries	Tempo	Intervalo
1	2	20min	5min
2	2	20min	5min
3	2	20min	5min
4	2	20min	5min
5	2	20min	5min
6	2	20min	5min
7	2	20min	5min
8	2	20min	5min
9	2	20min	5min
10	2	20min	5min

Tabela 4. Cronograma de treinamento físico adaptado do protocolo de Farias (2012).

3.7 ELISA

A avaliação dos anticorpos específicos foi realizada através da técnica de ELISA indireta. Para isso, placas de ELISA contendo 96 poços foram sensibilizadas overnight a 4°C com 100 µL a 1,0 µg/poço do veneno

Titius serrulatus em 0,02 M de tampão de incubação (bicarbonato de sódio, pH 9,6). Após lavagem da placa e bloqueio com caseína 2%, 100µL de diferentes concentrações (concentração inicial 1:50 em tampão de incubação) dos antivenenos produzidos foram incubados por 1 hora a 37°. Em seguida, após nova lavagem, incubou-se a placa com 100µL/poço de anticorpo secundário anti-mouse-peroxidase (*Sigma*), diluído 1:40000 em tampão de incubação por 1 hora a 37°C, para em seguida revelar com o substrato OPD (ortofenildiamina) e Peróxido de Hidrogênio. Os valores das absorbâncias foram determinados a 492nm com a utilização do leitor de ELISA. Como controle, foi utilizado um SAEs produzido pela FUNED. Todas as medidas foram realizadas em triplicatas e os resultados expressos como a média dos valores.

3.8 TESTES DE SENSIBILIDADE À DOR E COMPORTAMENTAIS

3.8.1 Campo aberto

O teste de campo aberto é uma técnica utilizada para medir a atividade locomotora e a exploração espontânea de um novo ambiente em estudos com animais (Seibenhener e Wooten, 2015). O teste é realizado em uma caixa de madeira (40cm/60cm/50cm), onde o piso é dividido em nove quadrados iguais. O animal é cautelosamente colocado no centro da caixa para explorar livremente a área durante 5 minutos. Neste período, contam-se quantas vezes o animal cruza entre um quadrado e outro e quantas vezes ele fica apoiado apenas nas patas traseiras (com as dianteiras suspensas). Essas respostas são típicas de roedores, e consideradas indicadores de atividade locomotora e exploratória.

3.8.2 Teste de hiperalgesia mecânica – Von Frey

Os animais são colocados em caixas de acrílico, cujo assoalho é uma rede de malha constituída de arame não maleável de 1mm de espessura, durante 15 minutos antes do experimento para adaptação ao ambiente. Após, aplica-se, por entre as malhas da rede, uma pressão linearmente crescente no centro da planta da pata do camundongo até que o animal produza uma resposta caracterizada como sacudida (“*flinch*”) da pata estimulada (Cunha, 2004).

O contato do transdutor de pressão à pata dos animais é realizado por meio de uma ponteira descartável de polipropileno com 0.5mm de diâmetro adaptada a este. Os estímulos são repetidos por até seis vezes, em geral até o animal apresentar três medidas similares com uma clara

resposta de retirada da pata. A intensidade de hipernocicepção é quantificada como a variação na pressão (D de reação em gramas) obtida subtraindo-se a média de três valores expressos em gramas (força), observada antes do procedimento experimental (0 hora) da média de três valores em gramas (força) após a administração dos estímulos que variam de acordo com o experimento (Cunha, 2004).

3.9 AVALIAÇÃO DE PARÂMETROS BIOQUÍMICOS

Para a análise dos parâmetros bioquímicos, pool de soros dos camundongos foram analisados pela metodologia do sistema enzimático para detecção de glicose, colesterol total, triglicerídeos, enzima transaminase glutâmica oxalacética (TGO) e transaminase glutâmica pirúvica (TGP) por meio de kits Dialab.

3.10 AVALIAÇÃO DE PARÂMETROS INFLAMATÓRIOS

Para avaliar parâmetros inflamatórios, analisou-se os níveis de IL-1, IL-4, IL-6 e IL-10 do músculo gastrocnêmio. As estruturas foram homogeneizadas em solução de fosfato com um inibidor de protease (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, EUA), centrifugadas a 3.000g por 5min e o sobrenadante foi utilizado para as determinações. Os níveis destas citocinas nos tecidos em questão foram determinados por meio de kits ELISA comerciais (Invitrogen by Thermo Fisher Scientific), seguindo as recomendações do fabricante. Os níveis de proteína foram determinados através do método de Lowry (1951), com albumina de soro bovino usada como padrão (Lowry et al., 1951).

3.11 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para comparar a ação dos protocolos de exercícios, juntamente com o efeito das imunizações do veneno de *T. serrulatus* em semanas diferentes e entre elas, foi utilizado o teste ANOVA two-way, seguido do teste post hoc de bonferoni. As diferenças entre os grupos foram consideradas significativas quando os valores de P foram menores que 0,05 ($p < 0,05$). A análise estatística foi realizada com o programa GraphPad Prism 5.0.

4 RESULTADOS

4.1 PRODUÇÃO DE ANTICORPOS

Os animais dos grupos controle e exercício físico foram submetidos, semanalmente, por 10 semanas, a imunizações com $\frac{1}{4}$ da DL_{50} do veneno *T. serrulatus*, com o intuito de avaliar a produção de anticorpos específicos. Uma vez por semana, coletou-se o sangue dos camundongos para obtenção do soro. A Figura 6 mostra que houve um aumento semelhante na concentração de anticorpos ao longo de 10 semanas, exceto na semana 4, onde houve uma diferença significativa entre o grupo controle e o grupo de exercício. Neste período, pode-se observar uma concentração de anticorpos significativamente maior no grupo de exercício. Nas demais semanas não houve diferença significativa entre os grupos.

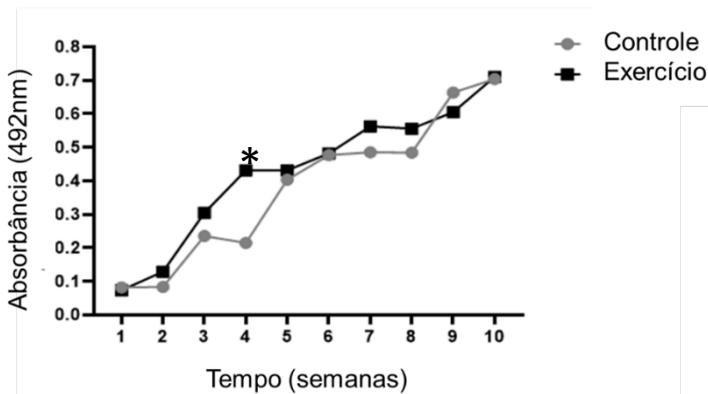


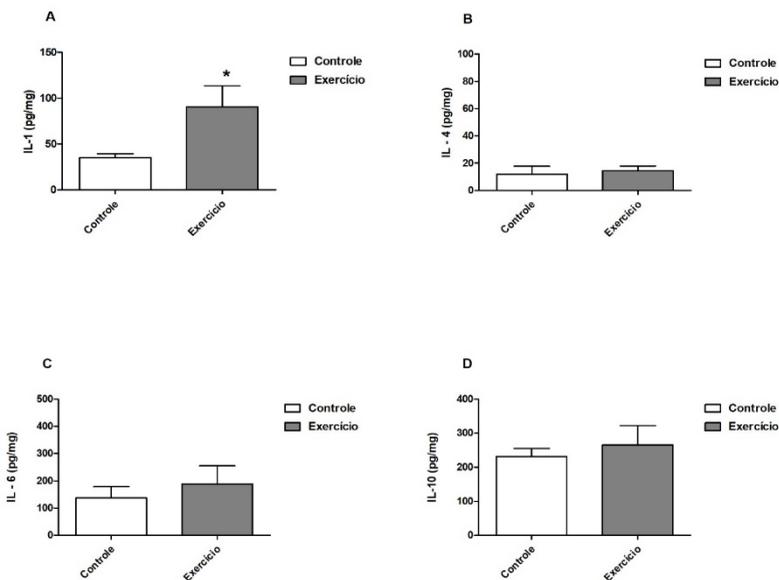
Figura 6. Concentração da produção de anticorpos anti-*Tityus serrulatus* avaliado pelo teste ELISA. (*) diferença significativa $P \geq 0,05$ entre grupo exercício e grupo controle na mesma semana. A produção de anticorpos foi significativamente maior no grupo exercício físico em relação ao grupo controle na quarta semana de experimento.

4.2 PARÂMETROS INFLAMATÓRIOS

Os níveis de IL-1, IL-4, IL-6 e IL-10 foram usados como marcadores da resposta inflamatória induzida pelo exercício físico. Os níveis de IL-1 (Figura 7A) mostram um aumento significativo no grupo de exercício em comparação ao grupo controle. No entanto, os níveis de IL-4 (Fig.

7B), IL-6 (Fig. 7C) e IL-10 (Fig. 7D) não mudaram significativamente quando comparados ao grupo controle.

Figura 7. Análise de marcadores inflamatórios no músculo gastrocnêmio. (*)



diferença significativa $P \geq 0,05$. Os valores de IL-1 foram significativamente maiores nos animais do grupo exercício físico em relação ao grupo controle. Os demais marcadores não apresentaram diferenças significativas.

4.3 TESTE DE CAMPO ABERTO

Para avaliação comportamental dos animais, números de cruzamentos (Fig. 8A), e de levantamentos (Fig. 8B) e as idas ao centro (Fig. 8C) dos animais foram avaliados durante as 10 semanas (1x/semana). Os resultados mostram um aumento nos números de cruzamentos no grupo de animais que realizaram exercício físico em relação ao grupo controle. Já os números de levantamentos não apresentaram diferença significativa entre os grupos. Por fim, os números de idas ao centro apresentaram diferença significativa somente na 5ª semana, onde foi maior no grupo que realizou exercício. Nas outras semanas não houve diferença significativa.

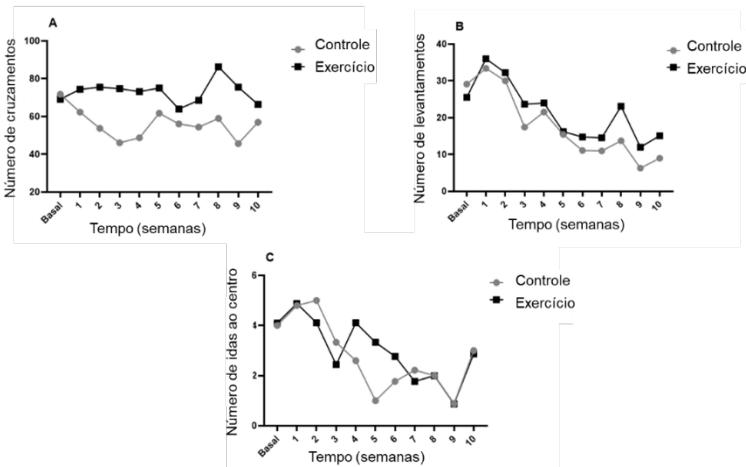


Figura 8. Resultados do teste de campo aberto. (A) Cruzamentos; (B) levantamentos; (C) idas ao centro. Os resultados referem-se aos diferentes componentes do teste e não indicaram diferenças significativas entre os grupos.

4.4 TESTE DE HIPERALGESIA MECÂNICA - VON FREY

Para acompanhar a dor durante as semanas de imunizações com veneno de *Tityus serrulatus* foi realizado o teste de Von Frey que avalia a sensibilidade dos animais à estimulação. Conforme mostrado na Figura 9, apesar dos resultados não mostrarem diferença estatisticamente significativa entre os grupos, os animais que realizaram exercícios físicos estabilizaram a sensibilidade à dor a partir da sexta semana de treinamento físico.

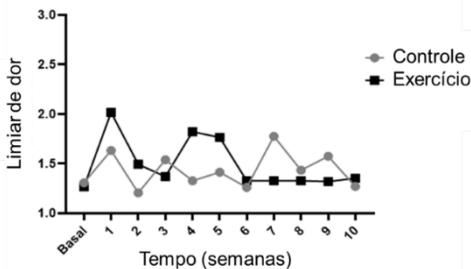


Figura 9. Resultados sobre a sensibilidade dos animais aos estímulos mecânicos pelo teste de Von Frey indicam que não houve diferença significativa entre os grupos analisados.

4.5 PESO CORPORAL

Para verificar alterações físicas nos animais submetidos ou não ao exercício físico, o peso corporal dos animais foi avaliado durante as 10 semanas (1x/semana) e conforme mostrado na Figura 10, não houve diferença significativa no peso corporal final.

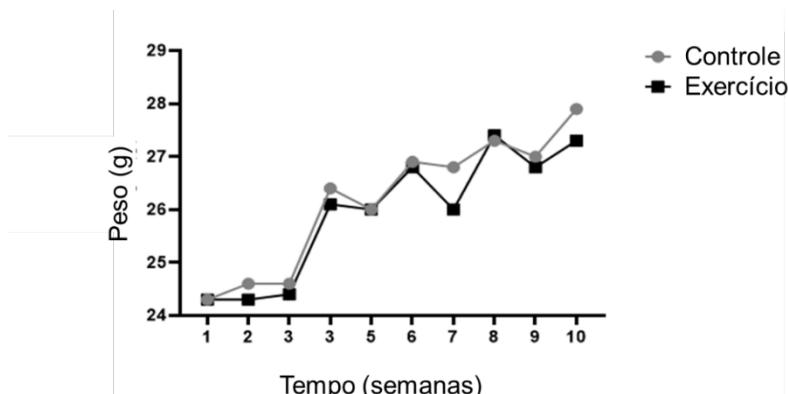


Figura 10. Peso corporal (g) dos animais durante as 10 semanas de experimento. O resultado indica que não houve diferença significativa no peso dos animais.

4.6 LONGEVIDADE DOS ANIMAIS E AVALIAÇÕES BIOQUÍMICAS

Após o período de imunizações, oito animais de cada grupo foram aleatoriamente selecionados e submetidos à eutanásia, na qual foi retirado o músculo gastrocnêmio para análises bioquímicas. Os demais, também selecionados de maneira randomizada, foram acompanhados com intuito de observar sua qualidade de vida e longevidade. A figura 11A representa a cronologia do estudo, indicando que após o término dos exercícios, metade dos animais foi sacrificada para análises bioquímicas e a outra metade realizou nova análise após um ano. Além disso, a figura indica que o primeiro óbito do grupo controle foi na semana 56 e a última, na semana 82. Em contrapartida, a primeira morte dos animais do grupo exercício foram observadas na semana 82 e a última, 95 semanas após o início do estudo.

A Figura 11B representa os números e datas das mortes dos animais, onde o primeiro óbito do grupo controle ocorreu na 56ª semana, período em que os animais tinham 17 meses de vida, enquanto o último ocorreu na

82ª semana, quando os animais estavam com 19 meses de vida. Por outro lado, esta foi a idade do primeiro óbito no grupo de camundongos que realizaram exercício físico. O último óbito neste grupo ocorreu na 95ª semana, quando o animal já estava com 22 meses de vida. Desta forma, os animais que fizeram exercícios físicos viveram $20,3 \pm 0,9$ meses, já os animais que não fizeram exercícios físicos durante o protocolo de imunização, viveram $17,5 \pm 0,8$ meses (Figura 11C), evidenciando maior sobrevida dos animais do grupo exercício.

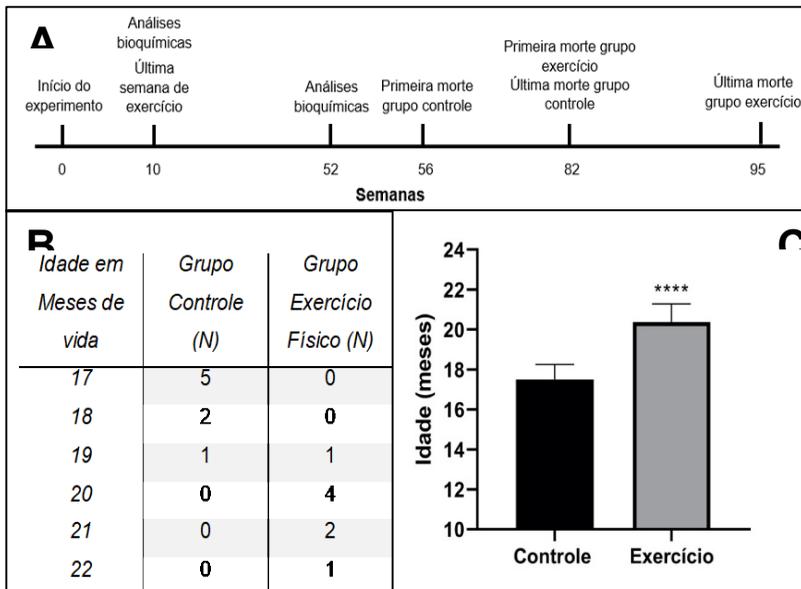


Figura 11: Acompanhamento da vida dos animais. (A) cronologia do experimento em semanas. (B) meses em que os animais vieram a óbito. (C) média de vida dos animais de cada grupo. (****) diferença significativa $P \geq 0,001$. Os resultados mostram que os animais do grupo exercício físico apresentaram maior longevidade do que os animais do grupo controle.

Já a Tabela 6 representa os resultados dos parâmetros bioquímicos das amostras de sangue coletadas dos animais do grupo controle e do grupo exercício na última semana (semana 10) e 1 ano após o término do experimento. Pode-se observar que os animais que realizaram exercícios apresentaram níveis mais baixos de glicose e colesterol total, um ano após 10 semanas. Uma mudança importante também foi observada, um ano depois, no perfil hepático (TGO e TGP) dos animais que não se exercitavam.

	<i>Controle 10 semanas</i>	<i>Controle 1 ano após 10 semanas</i>	<i>Exercício 10 semanas</i>	<i>Exercício 1 ano após 10 semanas</i>
<i>Glicose</i>	143	298	163	165
<i>Colesterol</i>	82	133	86	82
<i>Triglicerídeos</i>	55	53	53	43
<i>TGO</i>	505	915	245	300
<i>TGP</i>	75	400	200	105

Tabela 6: Valores dos parâmetros bioquímicos do pool de sangue de animais imunizados e submetidos ou não ao exercício físico. Em negrito, valores que apresentaram grande diferença entre os grupos. Os resultados mostram que o exercício físico parece ter exercido influência positiva sobre os parâmetros bioquímicos dos animais.

5 DISCUSSÃO

Os acidentes escorpiônicos são considerados problemas de saúde negligenciados ao redor do mundo e o número de casos cresce exponencialmente ano após ano. Atualmente, a técnica de obtenção de soro antiescorpiônico data do século passado e utiliza prioritariamente animais de grande porte, que desenvolvem a sintomatologia do veneno, vivendo em condições precárias e conseqüentemente diminuindo sua expectativa de vida. Este processo, além de impactar diretamente a saúde do animal, apresenta altos custos na aquisição e manutenção dos equinos. Com o intuito de melhorar a qualidade de vida e aumentar a longevidade dos animais, avaliou-se o efeito do exercício físico sobre a produção de anticorpos em animais submetidos ao veneno do escorpião *Tityus serrulatus*. O exercício físico representa um importante fator de prevenção e tratamento de uma série de doenças e é reconhecidamente um dos pilares para uma maior expectativa de vida entre os seres vivos.

Apesar dos benefícios de o exercício físico já serem amplamente conhecidos e divulgados, os efeitos no sistema imunológico, especialmente na produção de anticorpos, ainda são um pouco obscuros. Com isso, o estudo buscou avaliar e entender se a prática de exercício físico regular poderia impactar em uma diminuição ou alteração na produção dos antivenenos. Os resultados do presente trabalho mostraram que não houve alteração significativa na produção e concentração de anticorpos nos animais dos grupos controle e exercício físico, submetidos à imunização com veneno escorpiônico da espécie *Tityus serrulatus*. Este trabalho é pioneiro na avaliação dos efeitos do exercício físico sobre a produção de anticorpos em animais submetidos a imunizações com veneno escorpiônico, portanto acredita-se que o protocolo utilizado não promove alteração na produção de anticorpos durante um período de treinamento físico de 10 semanas. Em associação aos resultados supracitados, este tratamento não farmacológico pode melhorar a qualidade de vida e longevidade de animais expostos ao treinamento. Neste trabalho foi constatado que a produção de anticorpos oscilou igualmente entre os grupos, no qual os animais que praticaram exercício físico apresentaram um aumento significativamente maior em relação ao grupo controle na concentração dos anticorpos na quarta semana de experimento. A partir da semana 5, os níveis foram semelhantes entre os grupos.

As adaptações promovidas pelo exercício físico sobre a produção de imunoglobulinas parecem ser diretamente ligadas ao volume e intensidade do treinamento (Poortmans, 1970). É de suma importância

classificar os exercícios e diferenciá-los, tendo em vista que apenas os exercícios físicos vigorosos e prolongados apresentam uma redução na produção de anticorpos. Tal fato deve-se a elevação exacerbada de hormônios como o cortisol, que afetam a capacidade dos linfócitos B de produzirem anticorpos (Nieman e Cannarella, 1991).

Os exercícios físicos moderados ou intensos de curta duração parecem não promover alterações malélicas na produção de imunoglobulinas. Onuegbu et al. (2015) avaliaram a produção de imunoglobulinas G (IgG) e M (IgM) em indivíduos treinados. Os participantes (N=100) foram divididos em dois grupos: exercício físico moderado e exercício físico intenso. No grupo de exercício físico moderado, os participantes jogaram futebol em intensidade moderada 3 vezes por semana, com duração de 30 minutos. Os indivíduos do grupo de exercício físico intenso jogaram futebol 5 vezes por semana com duração de 120 minutos. Após 4 semanas de treinamento, houve um leve aumento de IgG em ambos os grupos. Em contrapartida, os níveis de IgM foram significativamente maiores nos grupos 4 semanas após o encerramento do estudo.

Nieman e Cannarella (1991) avaliaram o efeito agudo e crônico do exercício moderado e concluíram que não houve diferença significativa na produção de anticorpos entre os praticantes de exercício físico e os sedentários. Contudo, cronicamente, os indivíduos que realizaram exercícios físicos de maneira regular apresentavam maiores níveis de IgG em relação ao grupo que não praticou exercício físico. Quando se trata de imunologia, tem-se creditado o aumento de imunoglobulinas a uma melhor capacidade imunológica e a diminuição com estado de imunossupressão. Tal fato pode ser justificado, pois o exercício físico promove uma série de microlesões no tecido muscular, resultando em um aumento da expressão de citocinas pró-inflamatórias, que leva à ativação da imunidade celular e conseqüentemente a uma maior ativação de macrófagos. Este contexto ativa um chamado “estado de alerta” do organismo, que apresenta uma maior capacidade de resolução de infecções intracelulares (Terra, 2012).

A partir dos fatores supracitados, o presente estudo avaliou marcadores inflamatórios no músculo gastrocnêmio dos animais que fizeram exercício físico e comparou com os animais do grupo controle. Foram analisadas as interleucinas 1, 4, 6 e 10 e apenas a IL-1 apresentou diferença significativa entre os animais do grupo exercício físico em relação ao grupo controle. Magalhães et al. (1999) observaram o aumento dos níveis de interleucinas inflamatórias em pacientes que sofreram envenenamento da espécie *Tityus serrulatus*. O estudo

mostrou também, que os níveis das interleucinas aumentam proporcionalmente à quantidade do veneno e gravidade do envenenamento. Fukuhara et al. (2003) avaliou os níveis plasmáticos de IL-1, IL-6, IL-8, IL-10 e TNF α em pacientes com envenenamento moderado ou grave. Os resultados mostraram um aumento de todos os marcadores. A interleucina IL-1 tem um aumento significativo observado em um estudo de Meki e El-Dean (1998), que analisou crianças vítimas de acidentes de escorpião. Os autores também constataram um aumento significativo no marcador nos casos de maior gravidade e concluíram que este processo é resultado principalmente das catecolaminas liberadas pelo veneno.

O exercício físico representa um estímulo diretamente ligado às alterações dos marcadores inflamatórios. Conforme Cannon (2000), a produção de citocinas é modulada através de alguns estímulos, como: estresse hormonal, estresse oxidativo (ambos sofrem alteração direta do veneno) e exercício físico. O aumento exponencial dos níveis de IL-1 nos animais praticantes de exercício físico parece estar relacionado diretamente com o protocolo utilizado no trabalho. O exercício físico de moderada intensidade parece promover um aumento das citocinas inflamatórias de maneira aguda, em decorrência das microlesões no tecido muscular geradas pela prática. Este processo resulta em uma maior ativação de macrófagos e a ativação da imunidade celular (Terra, 2012). Uma revisão conduzida por Boaes et al. (2017) indicou que o aumento das citocinas é diretamente relacionado à intensidade do treinamento. Os aumentos de parâmetros pró-inflamatórios são associados aos exercícios físicos de baixa e moderada intensidade e de parâmetros anti-inflamatórios com exercícios exaustivos. Estes achados corroboram com os obtidos no presente estudo, onde os animais que praticaram exercícios físicos não apresentaram diferenças significativas nas citocinas anti-inflamatórias (IL-4 e IL-10) em relação aos animais do grupo controle. Segundo Terra (2012), o aumento das citocinas anti-inflamatórias é encontrado após exercícios físicos extenuantes, pois os danos no tecido muscular são exacerbados, criando um ambiente anti-inflamatório e que resulta na inativação de macrófagos. Este processo é considerado um facilitador do desenvolvimento de infecções de mecanismos intracelulares, dificultando sua resolução.

Além disso, o presente trabalho buscou avaliar as consequências comportamentais da combinação do desgaste promovido pelo exercício físico somado ao estresse do envenenamento durante o período de imunizações. Apesar de ser o exercício menos lesivo e de certa forma menos estressor ao animal, o protocolo envolvendo natação tira o

animal de seu habitat natural e o força a realizá-lo de maneira não espontânea. Portanto, buscou-se identificar possíveis danos comportamentais, principalmente associados a quadros de depressão e ansiedade desses animais.

A avaliação de parâmetros comportamentais dos animais foi realizada através do teste de campo aberto. O campo aberto é uma técnica utilizada para medir a atividade locomotora e a exploração espontânea de um novo ambiente em estudos com animais (Seibenhener Wooten, 2015). Os resultados indicaram que os animais do grupo que realizou exercício físico apresentaram maiores números de cruzamentos em comparação com os animais do grupo controle. O número de cruzamento de quadrantes é considerado um marcador da atividade locomotora do animal, sendo que animais mais ativos tendem a apresentar maior capacidade exploratória do ambiente. Além disso, uma diminuição na locomoção e a elevada permanência em quadrantes, principalmente na periferia da caixa, indicam um comportamento de medo e ansiedade nos animais (Valle, 1970; Prut e Belzung, 2003). Altos e prolongados níveis de ansiedade parecem ter relação positiva com maiores taxas de mortalidade, uma vez que pacientes com altos níveis de ansiedade tem maiores riscos no desenvolvimento de inúmeras doenças, como: depressão, e doenças cardiovasculares (Janszky et al., 2010; Kandola e Stubbs, 2020). Apesar da ciência dos efeitos benéficos do exercício físico sobre o comportamento ansiolítico, pouco se sabe sobre os mecanismos que promovem tais alterações. Acredita-se que o exercício físico promova modulações cerebrais e endócrinas capazes de diminuir os fatores biológicos e fisiológicos envolvidos no comportamento ansiolítico e depressivo (Kandola e Stubbs, 2020).

Diferentemente da atividade locomotora, não houve diferença significativa na atividade exploratória entre os animais que realizaram exercício físico e os animais do grupo controle. Através do parâmetro número de levantamentos das patas superiores, os resultados indicam que os animais diminuíram considerável e igualmente, a exploração ao longo das 10 semanas, mostrando uma adaptação ao ambiente. Neste parâmetro, o exercício físico parece não apresentar interferência. Cruz et al. (2010) compararam os comportamentos locomotor e exploratório de ratos de ratos sedentários (jovens e adultos) e praticantes de natação (jovens e adultos). O comportamento locomotor dos animais foi significativamente maior nos grupos de exercício físico quando comparados aos animais sedentários. Em relação ao comportamento

exploratório, apenas os animais jovens do grupo exercício físico apresentaram maiores índices em relação aos demais.

A avaliação da atividade exploratória através do parâmetro número de idas dos animais ao centro, gerou resultados semelhantes, exceto na semana 5, onde os animais que realizaram exercícios físicos apresentaram níveis maiores do que os animais que não praticaram exercícios físicos. Segundo Valle (1970), os animais, por instinto, tendem a permanecer mais tempo na periferia do ambiente como mecanismo de defesa contra possíveis predadores. Isso é justificado em razão da proximidade com a parede, já que os animais passam seus órgãos sensoriais sobre superfícies verticais, gerando uma sensação de menor exposição (Valle, 1970; Treit et al., 1993). Apesar de todas as mudanças comportamentais promovidas pelo exercício discutidas anteriormente, o treinamento não pareceu modificar este comportamento específico do animal. Além do mais, não foram encontradas possíveis relações que justifiquem a diferença significativa demonstrada na semana 5.

Para entender e avaliar mais parâmetros relacionados ao bem-estar e qualidade vida dos animais utilizados no experimento, o presente estudo preocupou-se em avaliar a sensibilidade à dor dos camundongos, tendo em vista que o veneno apresenta propriedades indutoras da dor e que os animais realizaram exercícios físicos durante um período consecutivo de imunizações. No trabalho, a sensibilidade à dor foi avaliada por meio do teste de Von Frey e, apesar do protocolo de imunizações utilizar a inoculação do veneno no dorso do animal, nota-se claramente um aumento no limiar da dor em ambos os grupos na primeira semana e uma diminuição no decorrer do experimento. De uma forma geral, os resultados não demonstraram diferença significativa entre os animais dos dois grupos. Assim, o exercício físico parece não apresentar interferência no comportamento nociceptivo de camundongos inoculados com o veneno do escorpião *Tityus serrulatus*. O comportamento nociceptivo parece ter relação direta com os níveis inflamatórios, logo, a ausência de diferenças significativas dos marcadores de inflamação entre os grupos analisados parece justificar os pequenos índices de dor nos animais e a falta de efeitos decorrentes do treinamento físico. Apesar da semelhança nos resultados, os animais que praticaram exercício físico apresentaram estabilização na sensibilidade ao estímulo nociceptivo a partir da semana 6.

A justificativa para os achados do trabalho pode estar relacionada ao local da aplicação e, de certa forma, corroboram com a literatura. Guimarães et al. (2011), encontraram aumento significativo no comportamento

nociceptivo de ratos submetidos ao veneno do escorpião *Tityus serrulatus*. Tal fato foi ainda relacionado ao local de aplicação do veneno, que foi feita na pata do animal, local onde o estímulo do teste é realizado, aumentando a sensibilidade do membro. Os resultados obtidos por Toro et al. (2006) colaboram com esta hipótese, pois também houve o aumento na atividade nociceptiva dos animais submetidos ao veneno, que igualmente foi injetado na pata dos ratos. Segundo Guimarães et al. (2011), geralmente a dor ocorre de maneira mais específica no local do envenenamento, podendo estender-se à raiz do membro atingido.

Além das avaliações bioquímicas e fisiológicas, o presente estudo buscou avaliar a composição corporal dos animais, através do peso corporal. O peso corporal total dos animais não apresentou diferenças significativas entre os grupos durante as 10 semanas de experimento. O resultado era esperado em virtude da intensidade do exercício físico utilizada. Apesar da não diferenciação entre massa magra e massa gorda no estudo, o exercício físico de moderada intensidade não tem sido associado a uma diminuição no peso. Estudos recentes têm evidenciado cada vez mais que as mudanças no peso corporal são diretamente proporcionais à intensidade do exercício físico realizado. Hand et al. (2020) avaliaram dentre outras variáveis, a composição corporal de jovens adultos saudáveis e obesos sedentários em grupo de exercício moderado, exercício intenso e grupo de observação. Apenas alguns participantes do grupo de exercícios intensos apresentaram uma diferença significativa no peso corporal. O grupo de exercício físico moderado não obteve redução nos parâmetros de composição corporal e os autores sugerem que essa intensidade não é capaz de promover alterações no peso e que o organismo gere uma resposta compensatória ao exercício físico. Ho et al. (2012) realizaram um estudo onde 64 pessoas com sobrepeso e obesidade foram aleatoriamente divididas em 4 grupos e submetidas a diferentes intensidades de programas de treinamento físico. Os resultados corroboram com o presente estudo, já que o exercício físico de intensidade moderada não apresentou diferença significativa no peso corporal dos participantes. Em contrapartida, os pacientes apresentaram melhora em parâmetros cardiorrespiratórios.

Após o período de imunizações e prática de exercícios físicos, o presente estudo avaliou a longevidade e a vida dos animais após o experimento. As condições de saúde foram medidas através de avaliações bioquímicas. Os parâmetros bioquímicos analisados no estudo apresentaram diferenças significativas entre os animais do grupo controle e grupo exercício físico, exceto nos triglicerídeos. Nota-se que

ao final de 10 semanas de experimento de imunizações, os grupos apresentaram níveis semelhantes em quase todos os parâmetros. Em contrapartida, 1 ano após o término dos experimentos, os níveis de: glicose, colesterol, TGO e TGP foram maiores no grupo controle que não realizou exercício físico em comparação com o grupo que praticou exercício físico. Ainda, após a interrupção das imunizações e protocolos de treino, os grupos demonstraram diferentes adaptações, levando a crer que o exercício físico foi capaz de promover uma manutenção dos níveis bioquímicos avaliados. Os animais que não praticaram exercícios apresentaram um declínio nas condições analisadas, corroborando com a diminuição do tempo de vida, conforme dados citados anteriormente.

O envenenamento da espécie *Tityus serrulatus* desencadeia uma série de alterações sanguíneas no organismo. Dentre elas, uma das mais conhecidas e importantes é a hiperglicemia, uma vez que o veneno provoca efeitos diretos dos neurotransmissores no fígado, pâncreas e tecido adiposo. Sendo assim, as catecolaminas induzem a glicogenólise hepática (Murthy e Haghazari, 1999). Corrêa et al. (1997) observaram também a incidência de hiperglicemia e redução do glicogênio hepático em ratos submetidos ao veneno deste mesmo escorpião. Os resultados obtidos também corroboram com um estudo de Cusinato et al. (2010) que avaliou alterações hematológicas induzidas pelo veneno do escorpião *Tityus serrulatus* em ratos. Todos os animais utilizados no estudo apresentaram quadros de hiperglicemia. O exercício físico demonstrou ter papel fundamental na manutenção dos níveis de glicose, evitando o aumento da hiperglicemia gerada pela inoculação do veneno. Os efeitos do treinamento regular sobre a glicose são bem documentados, pois o exercício físico gera adaptações metabólicas capazes de promover a estimulação da captação da glicose pelo músculo, através da translocação do transportador da glicose (Pauli et al., 2009). O treinamento físico de intensidade moderada utiliza a glicose e os ácidos graxos como principais substratos energéticos e estes são geralmente oriundos de depósitos intramusculares, da produção hepática ou da mobilização de tecido adiposo (Ferrari et al., 2019). É importante salientar que, mesmo um ano após a interrupção do treinamento, os animais conseguiram manter os níveis de glicemia. A literatura ainda não consegue explicar tal fenômeno, contudo, a hipótese mais aceita é que longos períodos de treinamento físico continuado parecem ainda regular parâmetros bioquímicos e inflamatórios, aumentando a sobrevida dos animais.

Os níveis de colesterol também aumentaram consideravelmente nos animais do grupo controle um ano após o final dos experimentos. Não

há na literatura evidências que relacionem o veneno escorpiônico com o aumento sérico do colesterol. Os resultados encontrados no estudo parecem ser decorrentes do processo natural de envelhecimento, sendo que o exercício físico foi capaz de impedir este aumento. O envelhecimento traz uma série de modificações no organismo e uma delas é o aumento na concentração de lipídios e lipoproteínas. Dessa forma, há um aumento progressivo nos níveis de colesterol com o passar dos anos (Kreisberg et al., 1987). O papel do exercício físico sobre o metabolismo do colesterol está diretamente associado a intensidade e parece que os realizados com moderada intensidade não promovem alterações significativas nos níveis de colesterol total. Uma metanálise publicada por Kelley e Kelley (2006) mostrou que apenas 15% a 20% dos estudos selecionados promoveram alterações significativas nos níveis de colesterol em decorrência do exercício físico de moderada intensidade. Este mesmo estudo aponta que a diminuição dos níveis tem sido mais relacionada a um efeito secundário da perda de peso.

A análise dos triglicerídeos mostrou que não houve grandes diferenças entre os intergrupos. Apenas os animais do grupo exercício físico apresentaram uma redução um ano após o final do protocolo de exercícios, contudo, sem significância. Aparentemente não há uma relação entre o envenenamento da espécie *Tityus serrulatus* sobre os níveis de triglicerídeos e a falta de estudos sobre o tema pode vir a corroborar com essa hipótese. Os triglicerídeos armazenados no tecido adiposo são considerados os principais fornecedores de ácidos graxos livres para substrato energético durante a realização do exercício físico. A regularidade da prática de exercícios físicos parecer ser um importante aliado na manutenção dos níveis e na diminuição do excesso de triglicerídeos (Ranallo e Rhodes, 1998). Os níveis de triglicerídeos tendem a diminuir conforme a prática de exercícios durante a vida, especialmente no envelhecimento. Ryan (2010) descreveu os efeitos da prática de exercícios aeróbios durante o envelhecimento e constatou que idosos que praticam exercícios físicos aeróbios regularmente apresentam menores índices de triglicerídeos em comparação com sedentários. Além disso, o mesmo estudo mostrou que níveis de hipertrigliceridemia estão mais associados com sobrepeso e obesidade do que com os níveis de prática de exercícios físicos.

Ademais, foram avaliados os níveis de transaminase glutâmico oxalacética (TGO) e transaminase glutâmico pirúvica (TGP). Os resultados mostraram um aumento das TGO em todos os animais do grupo controle, aumentando ainda mais, após 1 ano e 10 semanas de

vida quando comparados com os animais do grupo que realizou exercício físico. Os animais do grupo que realizou exercício físico por sua vez, não apresentaram alterações significativas um ano após o fim do experimento, indicando um efeito positivo do exercício físico sobre o parâmetro supracitado. Em relação a TGP, nota-se um aumento exacerbado no grupo controle após 1 ano do fim das atividades de imunizações. Em relação ao grupo que realizou exercícios físicos, um ano após o fim dos protocolos de exercício e imunizações, os valores de TGP diminuíram consideravelmente.

A transaminase TGO é comumente encontrada em uma gama de tecidos, como: fígado, coração, músculos, rins e cérebro. Já a TGP é considerada mais específica de lesão hepática, pois grande parte de sua concentração está localizada no fígado. O aumento significativo das transaminases, especialmente TGO, pode ser justificado em virtude de que o veneno se distribui rapidamente pela corrente sanguínea e atinge diretamente vários tecidos, sendo as maiores concentrações encontradas nos rins e fígado (Nunan et al., 2001; Nunan et al., 2004).

Apesar de encontrar lesões no fígado, Galvani et al. (2017) que avaliaram após envenenamento, a ação do veneno em diferentes órgãos, não detectaram a presença do veneno no fígado, em diferentes tempos após a inoculação (1h, 2h, 6h e 12h). Por sua vez, Corrêa et al. (1997) mostraram em ratos que receberam uma dose intravenosa de 100 µg/kg do veneno *Tityus serrulatus*, a formação de congestão hepática com hemólise e degeneração hidrópica e um baixo nível de glicogênio hepático, além de alterar significativamente os níveis séricos de aspartato aminotransferase, amilase, creatina quinase e lactato desidrogenase, bem como hiperglicemia, um alto nível de ácidos graxos livres no plasma. Desta forma, acredita-se que a metabolização hepática do veneno é extremamente rápida, já que Revelo e colaboradores (1996) observaram que as maiores concentrações ocorreram 15 minutos após o envenenamento, com sérios danos ao fígado. Estes dados são confirmados pelo estudo de Ribeiro et al. (2010) que avaliou o perfil bioquímico de cães saudáveis submetidos a inoculação do veneno do escorpião *Tityus serrulatus* e indicou um aumento significativo na concentração de TGO e TGP em relação ao grupo controle. Na pesquisa, as diferenças mais significativas foram observadas nas análises de 2h e 6h após o envenenamento e a recuperação dos níveis normais após 24h.

Diferentemente dos demais, como os trabalhos de Galvani et al. (2017) e Revelo et al. (1996) que avaliaram a toxicidade do veneno em uma única dose, o presente estudo, acompanhou a imunização semanal por

um período de 10 semanas, portanto, acredita-se que constante número de inoculações com o veneno, mais a presença do adjuvante, possa ter promovido um aumento relativo no dano ao fígado e este processo provavelmente foi acentuado com o processo de envelhecimento dos animais.

Os níveis de TGO aumentaram em ambos os grupos ao final das 10 semanas de experimento, contudo, após um ano, os valores dos animais do grupo controle aumentaram praticamente o dobro, enquanto os animais do grupo exercício físico apresentaram discreto aumento. Em relação aos níveis de TGP, os níveis encontrados após as 10 semanas foram maiores no grupo exercício físico, porém, após um ano do final do experimento estes valores diminuíram. Já o grupo controle apresentou níveis de TGP praticamente 6 vezes maiores no mesmo período. Estes dados, especialmente de TGO, parecem estar diretamente relacionados à prática dos exercícios físicos, pois este marcador também é um indicativo de dano muscular (Leppanen, 1989). Acredita-se, juntamente com as demais análises, que o período de treinamento mostrou ser um fator que limita o aumento ou diminui os níveis dessas transaminases, diminuindo os potenciais riscos decorrentes de níveis exacerbados.

A regulação do metabolismo da glicose parece ter um papel fundamental na manutenção e diminuição desses níveis após um ano do encerramento do experimento. Por ser um indicador de dano hepático, a TGP apresentou redução com o passar do tempo, acompanhando os demais marcadores bioquímicos. Este achado pode ser justificado pela utilização da glicose hepática como substrato energético nos animais que praticaram exercícios físicos. O perfil bioquímico dos animais, associado a outras variáveis analisadas no trabalho, parecem explicar o aumento do tempo de vida dos animais que praticaram exercícios físicos em relação ao grupo controle.

A partir dos resultados, nota-se que a primeira morte do grupo controle ocorreu na semana 56, enquanto a primeira do grupo exercício físico apenas na semana 82. Nesta mesma semana, apresentou a última morte do grupo controle e, em contrapartida, o último animal do grupo exercício veio a óbito na semana 95. Assim, os animais que fizeram exercícios físicos viveram em média 20,3 meses, quase 3 meses mais que os animais que não fizeram exercícios físicos, que viveram em média 17,5 meses. Sabe-se que consecutivas doses de veneno acarretam alterações nos sistemas neuromuscular, cardiovascular e respiratório do animal produtor de soro antiveneno (Machado-de Ávila et al., 2004). Sendo assim, observa-se uma condição de saúde debilitada e, por

consequência, uma menor expectativa de vida dos animais usados neste processo (Chipaux e Goyffon, 1998; Gazarian et al., 2005).

O desenvolvimento de alternativas que permitam melhores condições de saúde aos animais produtores do veneno vem sendo estudado há algum tempo e o exercício físico surge como uma possível ferramenta no processo. A causa das mortes dos animais não foi diagnosticada, mas os resultados bioquímicos, principalmente um ano após o período de imunizações, sugerem que o protocolo de exercício físico contribuiu diretamente para um maior tempo de vida dos animais utilizados no estudo. Estes dados podem ser justificados pelos efeitos benéficos do exercício físico sobre os mais diferentes sistemas do organismo, principalmente os mais atingidos pelo veneno. O envenenamento da espécie *Tityus serrulatus* age diretamente na saúde cardiovascular, aumentando a pressão arterial por meio da liberação de catecolaminas das adrenais e terminações pós-ganglionares. Além disso, pode levar a quadros de arritmias, falência do ventrículo esquerdo e alterações na contratilidade do miocárdio e do fluxo coronariano (Freire-Maia et al., 1994; Cupo e Hering, 2002; Cardoso et al., 2003).

O exercício físico regular é citado há muito tempo como um importante agente regulador da pressão arterial. Uma metanálise com 72 estudos e aproximadamente 4000 indivíduos analisados, encontrou resultados que comprovam a diminuição média de 3 mmHg na pressão arterial de repouso em indivíduos fisicamente ativos. O estudo concluiu que o treinamento contínuo de 3 vezes por semana afeta positivamente o sistema nervoso simpático e está associado à prevenção e tratamento de hipertensão e diminuição do risco de acidentes cardiovasculares (Fagard, 2012). O exercício físico também aumenta a capacidade contrátil do miocárdio, uma vez que estímulos coordenados e repetitivos são capazes de aumentar o fluxo sanguíneo, reduzir a frequência cardíaca e aumentar o débito cardíaco. As contrações musculares decorrentes do exercício físico demandam um maior fluxo sanguíneo ao sistema musculoesquelético, estimulando uma maior ejeção de sangue durante a atividade. Com isso, há um aumento no tamanho do ventrículo esquerdo levando a uma diminuição na resistência periférica e uma otimização da irrigação de vasos e capilares. Todas essas alterações resultam em um aumento da sobrevivência do coração e menores chances de mortalidade em decorrência de doenças cardíacas (O'Connor et al., 1989; Goel et al., 2011; Anderson et al., 2016). Outro fator que parece corroborar com os achados da presente pesquisa é a capacidade do exercício físico em retardar o encurtamento de telômeros. A relação entre o comprimento dos

telômeros e o envelhecimento ainda é obscura, contudo, há sinais de que o exercício físico atua na desaceleração do encurtamento dos telômeros, levando a um aumento da expectativa de vida (Silva et al., 2018).

Os resultados encontrados no presente estudo parecem fornecer uma ferramenta não farmacológica eficiente para a qualidade de vida e longevidade de animais produtores de soros. O experimento mostrou que o exercício físico não alterou a produção de anticorpos no protocolo de imunização e, a partir dos parâmetros analisados, os animais fisicamente ativos apresentaram melhores condições de saúde durante a vida, vivendo muito mais. Portanto, apesar de todos os efeitos deletérios induzidos pela inoculação do veneno, o exercício físico pareceu inibir ou desacelerar alguns processos patológicos decorrentes do veneno e, por consequência, aumentar a expectativa de vida dos animais.

Os animais do grupo que praticou exercício físico não apresentaram alterações em marcadores inflamatórios, não apresentaram maior sensibilidade e dor e também não mostraram alterações comportamentais ao longo do período de imunizações. Além disso, os parâmetros bioquímicos analisados foram significativamente melhores em relação aos animais sedentários ao longo da vida, evidenciando um menor dano nos órgãos relacionados e no metabolismo de maneira geral. Esses resultados provavelmente foram os principais responsáveis pelo maior tempo de vida observado no grupo exercício físico.

6 CONCLUSÃO

Por fim, a partir dos resultados encontrados no presente estudo, pode-se concluir que o exercício físico não altera a produção de anticorpos em animais submetidos à inoculação do veneno do escorpião *Tityus serrulatus*. Ademais, os animais submetidos ao protocolo de exercício físico não evidenciaram nenhuma alteração em marcadores inflamatórios, peso corporal, sensibilidade à dor e comportamento capaz de interferir na produção de soro. Em suma, os animais do grupo exercício físico mostraram melhores resultados em avaliações de parâmetros bioquímicos e um maior tempo de vida em comparação com os animais do grupo controle.

REFERÊNCIAS

- Abbas Abul K, Lichtman, Andrew H, Pillai Shiv. *Imunologia celular e molecular*. 8ª ed. Rio de Janeiro: Elsevier; 2015.
- Alberts B, Dennis B, Lewis J, Raff M, Roberts K, Watson JD. *Molecular Biology of the Cell*, 3rd ed. New York: Garland Publ.; 1995.
- Anderson L, Oldridge N, Thompson DR, Zwisler AD, Rees K, Martin N, Taylor RS. Exercise-based cardiac rehabilitation for coronary heart disease: Cochrane systematic review and meta-analysis. *J Am Coll Cardiol*. 2016;67(1):1–12.
- Ball E. Agar diffusion techniques. Introduction In: *Serological methods for detection and identification of viral and bacterial pathogens - a laboratory manual*. Ed. R. Hampton, E. Ball, S. de Boer. APS Press, St. Paul, Minnesota, USA. 1990a;97-100.
- Bannister JV, Calabrese L. Assays for superoxide dismutase. *Methods Biochem Anal*. 1987;32:279-312.
- Bartlett DB, Willis LH, Slentz CA, Hoselton A, Kelly L, Huebner JL, Huffman KM. Ten weeks of high-intensity interval walk training is associated with reduced disease activity and improved innate immune function in older adults with rheumatoid arthritis: a pilot study. *Arthritis Research & Therapy*. 2018;20(1).
- Becerril B, Marangoni S, Possani LD. Toxins and genes isolated from scorpions of the genus *Tityus*. *Toxicon*. 1997;35:821-835.
- Benatti FB & Pedersen BK. Exercise as an anti-inflammatory therapy for rheumatic diseases-myokine regulation. *Nature reviews rheumatology*. 2015;11(2):86.
- Boaes DC, da Silva Miranda RM, Fragata MB, Pinto CG, Borges GF. Infecções do trato respiratório superior e treinos de alta intensidade: uma revisão integrativa da literatura/Upper respiratory tract infections and high intensity training: an integrative literature review. *Revista Ciências em Saúde*. 2017;7(2):30-34.
- Bonilha L, Cendes F, Ghizoni E, Vieira RJ, Li LM. Epilepsy due to a destructive brain lesion caused by a scorpion sting. *Arch Neurol*. 2004;61(8):1294–1296.
- Boyer L, Degan J, Ruha AM, Mallie J, Mangin E, Alagón A. Safety of intravenous equine F(ab')₂: Insights following clinical trials involving 1534 recipients of scorpion antivenom. *Toxicon*. 2013;76(15):386-393.
- Bucarechi F, de Capitani EM, Fernandes CB, Santos TM, Zamilute IAG, Hyslop S. Fatal ischemic stroke following *Tityus serrulatus* scorpion sting

- in a patient with essential thrombocytopenia. *Clin Toxicol (Phila)*. 2016;54(9):867–70.
- Bucarechi F, Fernandes LCR, Fernandes CB, Branco MM, Prado CC, Vieira RJ, De Capitani EM, Hyslop S. Clinical consequences of *Tityus bahiensis* and *Tityus serrulatus* scorpion stings in the region of Campinas, southeastern Brazil. *Toxicon*. 2014;89:17–25.
- Campbell NA and Reece JB. *Biology*. San Francisco: Benjamin Cummings. 2015.
- Campolina D. Georreferenciamento e estudo clínico epidemiológico dos acidentes escorpiônicos atendidos em Belo Horizonte, no serviço de toxicologia de Minas Gerais. 2006.
- Cannon JG. Inflammatory cytokines in nonpathological states. *News Physiol Sci*. 2000;15:298-303.
- Cardoso JLC, Franca F, Malaque CMS. Animais peçonhentos no Brasil: biologia, clínica e terapêutica dos acidentes. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*. 2003;45(6):338-338.
- Chaea SY. Protection of insulin secreting cells from nitric oxide induced cellular damage by crosslinked hemoglobin. *Biomaterials*. 2004;25:843–50.
- Chippaux JP, Goyffon M. Venoms, antivenoms and immunotherapy. *Toxicon*. 1998;36(6):823-846.
- Ciruffo PD; Coutinho LO; Boroni JD. Diniz AET; Diniz WF. Escorpionismo: quadro clínico manejo dos pacientes graves. *Rev Med Minas Gerais*. 2012;22(8):S1-S48.
- Cocchi FK. Síntese e caracterização de pequenos peptídeos lineares do veneno de *Tityus serrulatus* (Buthidae). 2016.
- Colberg SR, Dempsey PC, Dunstan DW, Riddell MC, Sigal RJ, Tate DF, Yardley JE. Physical Activity/Exercise and Diabetes: A Position Statement of the American Diabetes Association. *Diabetes Care*. 2016;39(11):2065–2079.
- Corrêa MM, Sampaio SV, Lopes RA, Mancuso LC, Cunha OA, Franco JJ, Giglio JR. Biochemical and histopathological alterations induced in rats by *Tityus serrulatus* scorpion venom and its major neurotoxin tityustoxin-I. *Toxicon*. 1997 Jul 35(7):1053-67. doi: 10.1016/s0041-0101(96)00219-x.
- Costa GG, Serejo LDFM, Coelho JDS, Cândido DM, Gadelha MADC, Parda PPDO. First report of scorpionism caused by *Tityus serrulatus*, described by Lutz and Mello, 1922 (Scorpiones, Buthidae), a species non-native to the state of Pará, Brazilian Amazon. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*. 2020;53.

- Cruz JGP, Silva AC, Lima DD, Dal Magro DD, Muller DF, Cruz JN. Efeitos do extrato de Ginkgo biloba (EGb 761) e da natação repetida sobre a memória, ansiedade e atividade motora de ratos. *Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada*. 2010;31(2).
- Cunha TM et al. An electronic pressure-meter nociception paw test for mice. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*. 2004;37(3):401-407.
- Cunningham JG. *Tratado de Fisiologia Veterinária*. 3ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, c2004, 579p.
- Cupo P, Hering SE. Cardiac troponin-I release after severe scorpion envenoming by *Tityus serrulatus*. *Toxicon*. 2002;40(6):823- 830.
- Cusinato DAC, Souza AM, Vasconcelos F, Guimarães LFL, Leite FP, Gregório ZMO, Giglio JR, Arantes EC. Assessment of biochemical and hematological parameters in rats injected with *Tityus serrulatus* scorpion venom. *Toxicon*. 2010;56(8):1477-1486.
- De Araújo HP. Avaliação da metodologia oficial in vivo e desenvolvimento de metodologia de inibição da citotoxicidade in vitro para determinação da potência do soro antibotrópico [tese de doutorado]. 2008.
- De Avila RAM, Alvarenga LM, Tavares CAP, Molina F, Granier C, Chávez-Olórtegui C. Molecular characterization of protective antibodies raised in mice by *Tityus serrulatus* scorpion venom toxins conjugated to bovine serum albumin. *Toxicon*. 2004;44(3):233-241.
- De Farias JM. Avaliação dos efeitos do exercício físico sobre parâmetros de estresse oxidativo e molecular em diferentes tecidos de camundongos expostos a dieta hiperlipídica. 2012.
- De Moraes Silva G, de Souza Araújo F, Teixeira-Araújo AA, do Nascimento RL, dos Santos GA, Moreira SR. Exercício físico e comprimento dos telômeros: uma revisão sistemática nas disfunções crônico-degenerativas. *ConScientiae Saúde*. 2018;17(2):211-218.
- De Paula LGG, Moreira GC, Castiglioni L, Mendes CAC. Levantamento clínico-epidemiológico de acidentes escorpiônicos na região de São José do Rio Preto, São Paulo, Brasil. *Arquivos de Ciências da Saúde*. 2020;27(1):32-36.
- Deckx N, Wens I, Nuyts AH, Lee WP, Hens N, Koppen G, Goossens H, Van Damme P, Berneman ZN, Eijnde BO, Cools N. Rapid exercise induced mobilization of dendritic cells is potentially mediated by a Flt3L- and MMP-9-dependent process in multiple sclerosis. *Mediat Inflamm*. 2015;158956.
- Dhondt E, Danneels L, Rijckaert J, Palmans T, Van Oosterwijck S, Van Oosterwijck J. Does muscular or mental fatigue have an influence on the

- nociceptive flexion reflex? A randomized cross-over study in healthy people. *European Journal of Pain*. 2021.
- Donovan DC, Jackson CA, Colahan PT, Norton NN, Clapper JL, Moore JN & Hurley DJ. Assessment of exercise-induced alterations in neutrophil function in horses. *American Journal of Veterinary Research*. 2007;68(11):1198–1204.
- Duarte CG. Identificação, síntese e caracterização de um epítipo descontínuo TsNTxP: uma anatoxina natural do veneno do escorpião *Tityus serrulatus*. 2007.
- Duarte CG. Imunoquímica de toxinas escorpiônicas que afetam canais para sódio: mapeamento de epítipos descontínuos. 2011.
- Espino-Solis GP, Riano-Umbarila L, Becerril B et al. Antidotes against venomous animals: state of the art and prospective. *Journal Proteomics*. 2005;72:3357- 3368.
- Fagard RH. Physical activity, fitness and mortality. *J Hypertens*. 2012;30(7):1310–1312.
- Ferrari F, Bock PM, Motta MT, Helal L. Mecanismos Bioquímicos e Moleculares da Captação da Glicose Estimulada pelo Exercício Físico no Estado de Resistência à Insulina: Papel da Inflamação. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia*. 2019;113:1139-1148.
- Ferreira RN, de Ávila RAM, Sanchez EF, Maria WS, Molina F, Granier C, Chávez-Olórtegui C. Antibodies against synthetic epitopes inhibit the enzymatic activity of mutalysin II, a metalloproteinase from bushmaster snake venom. *Toxicon*. 2006;48(8):1098-1103.
- Finney DJ. Probit analysis. Cambridge, England: Cambridge University Press, c1971. 31 p.
- Freire-Maia L; Campos JA, Amaral CFS. Approches to the treatment of scorpion envenoming. *Toxicon*, Oxford. 1994;32(9):1009-1014.
- Fukuhara YD, Reis ML, Dellalibera-Joviliano R, Cunha FQ, Donadi EA. 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*. 2003 Jan;41(1):49-55.
- Galvani NC, Vilela TC, Domingos AC, Fagundes MI, Bosa LM, Della Vechia IC, Scussel R, Pereira M, Steiner BT, Damiani AP, Chávez-Olórtegui C, de Andrade VM, de Ávila RAM. Genotoxicity evaluation induced by *Tityus serrulatus* scorpion venom in mice. *Toxicon*. 2017;140:132-138.
- Gazarian KG, Gazarian T, Hernández R, Possani LD. Immunology of scorpion toxins and perspectives for generation of anti-venom vaccines. *Vaccine*. 2005;23(26):3357-3368.

- Gibbs A, Harrison. *Plant Virology*. Edward Arnold (Publishers) Ltd, London. 1976;292.
- Gillen JB, Gibala MJ. Is high-intensity interval training a time-efficient exercise strategy to improve health and fitness? *Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism*. 2014;39(3):409–412.
- Goel K, Lennon RJ, Squires RW, Thomas RJ, Tilbury RT. Impact of cardiac rehabilitation on mortality and cardiovascular events after percutaneous coronary intervention in the community. *Circulation*. 2011;123(21):2344–2352.
- Guerra CM, Carvalho LF, Colosimo E, Freire HB. Analysis of variables related to fatal outcomes of scorpion envenomation in children and adolescents in the state of Minas Gerais, Brazil, from 2001 to 2005. *J Pediatr (RJ)*. 2008;84:509-15.
- Guidine PAM, Cash D, Drumond LE, Rezende GH, Massensini AR, Williams SCR, Moraes-Santos T, Moraes MFD, MMB Soares. Brainstem structures are primarily affected in an experimental model of severe scorpion envenomation. *Toxicol Sci*. 2014;137(1):147–57.
- Guidine PAM, Mesquita MBS, Moraes-Santos T, Massensini AR, Moraes MFD. Electroencephalographic evidence of brainstem recruitment during scorpion envenomation. *Neurotoxicology*. 2009;30(1):90–6.
- Guimarães PTC, Melo MM, Pinto MCL. "Perfis clínico e hematológico de camundongos submetidos ao envenenamento escorpiônico experimental por *Tityus fasciolatus*." *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*. 2011;63:1382-1390.
- Hand GA, Shook RP, O'Connor DP, Kindred MM, Schumacher S, Drenowatz C, Paluch AE, Burgess S, Blundell JE, Blair SN. The Effect of Exercise Training on Total Daily Energy Expenditure and Body Composition in Weight-Stable Adults: A Randomized, Controlled Trial. *J Phys Act Health*. 2020 Apr 1;17(4):456-463. doi: 10.1123/jpah.2019-0415. PMID: 32176862.
- Haskell WL, Lee IM, Pate RR, Powell KE, Blair SN, Franklin BA, Macera CA, Heath GW, Thompson PD, Bauman A. Physical activity and public health: Updated recommendation for adults from the American College of Sports Medicine and the American Heart Association. *Med sci sports exerc*. 2007;39(8):1423-1434.
- Ho SS, Dhaliwal SS, Hills AP, Pal S. The effect of 12 weeks of aerobic, resistance or combination exercise training on cardiovascular risk factors in the overweight and obese in a randomized trial. *BMC Public Health*. 2012 Aug 28;12:704. doi: 10.1186/1471-2458-12-704. PMID: 23006411; PMCID: PMC3487794.

- Hojman P, Gehl J, Christensen JF & Pedersen BK. Molecular mechanisms linking exercise to cancer prevention and treatment. *Cell metabolismo*. 2018;27(1):10-21.
- Ihalainen J, Walker S, Paulsen G, Hakkinen K, Kraemer WJ, Hamalainen M, Vuolteenaho K, Moilanen E, Mero AA. Acute leukocyte, cytokine and adipocytokine responses to maximal and hypertrophic resistance exercise bouts. *Eur J Appl Physiol*. 2014;114(12):2607–2616.
- Ismail, M. The scorpion-venom syndrome. *Toxicol*. 1995;33(7):825-858.
- Janszky I, Ahnve S, Lundberg I, Hemmingsson T. Early-onset depression, anxiety, and risk of subsequent coronary heart disease. *J Am Coll Cardiol*. 2010;56(1):31–37.
- Kandola A, Stubbs B. Exercise and Anxiety. *Adv Exp Med Biol*. 2020;1228:345-352. doi: 10.1007/978-981-15-1792-1_23. PMID: 32342469.
- Kelley GA, Kelley KS. Effects of aerobic exercise on C-reactive protein, body composition, and maximum oxygen consumption in adults: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Metabolism*. 2006;55(11):1500-1507.
- Kelley GA, Kelley KS. Exercise and sleep: a systematic review of previous meta-analyses. *J Evid Based Med*. 2017 Feb;10(1):26-36. doi: 10.1111/jebm.12236. PMID: 28276627; PMCID: PMC5527334.
- Kraemer WJ, Clemson A, Triplett NT, Bush JA, Newton RU, Lynch JM. The effects of plasma cortisol elevation on total and differential leukocyte counts in response to heavy-resistance exercise. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol*. 1996;73(1–2):93–97.
- Kreisberg RA, Kasim S. Cholesterol metabolism and aging. *The American journal of medicine*. 1987;82(1): 54-60.
- Lara, P. G. Efeito do veneno de *Tityus serrulatus* em camundongos selecionados geneticamente para máxima ou mínima resposta inflamatória. [Dissertação de Doutorado]. Universidade de São Paulo; 2012.
- Lenz G. Métodos imunológicos; Biofísica. 2004.
- Leppänen EA. Experimental basis of standardized specimen collection: the effect of short moderate exercise on serum K, Na, ASAT, ALAT, CK and LD. *Scandinavian journal of clinical and laboratory investigation*. 1989;49(3):287-292.
- Levine RL, Garland D, Oliver CN, Amici A, Climent I, Lenz AG et al. Determination of carbonyl content in oxidatively modified proteins. *Methods Enzymol*. 1990;186:464-78.

- Llopis PQ, Reig García-Galbis M. Control glucémico através del ejercicio físico en pacientes con diabetes mellitus tipo 2; Revisión sistemática glycemic control through physical exercise in type 2 diabetes systematic review. *Nutr Hosp*. 2015;3131(4):1465-1472.
- Lopes DPS, Muniz IPR, da Silva RAA. Intensidade de exercício físico e imunomodulação: impactos em infecções das vias aéreas. *Saúde e Pesquisa*. 2016;9(1):175-186.
- Lourenço WR, Cloudsley-Thompson JL, Cuellar O, Von Eickstedt VRD, Barraviera B, Knox MB. The evolution of scorpionism in Brazil in recent years. *J Venom Anim Toxins incl Trop Dis*. 1996;2(2):121-34.
- Lourenço WR. Scorpion incidents, misidentification cases and possible implications for the final interpretation of results. *J Venom Anim Toxins incl Trop Dis*. 2016; 22:21.
- Lourenço WR. The scorpion families and their geographical distribution. *Venom Anim Toxins*. Botucatu. 2001;7(1):7.
- Lourenço WR. What do we know about some of the most conspicuous scorpion species of the genus *Tityus*? A historical approach. *J Venom Anim Toxins Incl Trop Dis*. 2015;21(1):20.
- Lowry OH et al. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *Journal of biological chemistry*. 1951;193:265-275.
- Magalhães MM, Pereira ME, Amaral CF, Rezende NA, Campolina D, Bucarechi F, Gazzinelli RT, Cunha-MeloJR. Serum levels of cytokines in patients envenomed by *Tityus serrulatus* scorpion sting *Toxicon*. 1999 Aug;37(8):1155-1164.
- Malek A. Role of IgG antibodies in association with placental function and immunologic diseases in human pregnancy. Expert review of clinical immunology. 2013;9:235-49.
- Marcussi S, Arantes EC, Soares AM. Envenenamento. In: *Escorpiões: biologia, envenenamento e mecanismos de ação de suas toxinas*. Ribeirão Preto: FUNPEC Editora; 2011.
- McArdle WD, Katch FI, Katch VL. *Fisiologia do exercício: nutrição, energia e desempenho humano*. Traduzido por Giuseppe Taranto. 7ª ed. Rio Janeiro (RJ): Guanabara Koogan, 2011;83:3322.
- Meki ARMA, El-Dean ZMM. Serum interleukin-1 β , interleukin-6, nitric oxide and α 1-antitrypsin in scorpion envenomed children. *Toxicon*. 1998;36(12):1851-1859.
- Mendes BBRO. Estudo da toxina Ts1 nativa e recombinante de *Tityus serrulatus* na produção de soro neutralizante. [Dissertação de Mestrado]. Programa de Pós-Graduação em Genética. Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte: Universidade, 2012.

- Mendes TM. Antígenos para a produção de soro contra o veneno do escorpião *Tityus serrulatus* [tese de Doutorado]. Belo Horizonte: Universidade Federal de Minas Gerais; 2012.
- Mendes TM. Antígenos para a produção de soro contra o veneno do escorpião *Tityus serrulatus*. [tese de Doutorado]. Programa de Pós-Graduação em Fisiologia e Farmacologia. Minas Gerais: Universidade Federal de Minas Gerais, Instituto de Ciências Biológicas, Departamento de Fisiologia e Farmacologia; 2007.
- Ministério da Saúde (BR). Manual de diagnóstico e tratamento por animais peçonhentos. 2001; 1–111p. Disponível em: http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/funasa/manu_peconhentos.pdf.
- Ministério da Saúde (BR), Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância Epidemiológica. Manual de controle de escorpiões. Brasília. 2009; 7p. Disponível em: http://www.cevap.org.br/downloads/manual_escorpioes.pdf
- Ministério da Saúde (BR), Coordenação-Geral de Desenvolvimento da Epidemiologia em Serviços, Secretaria de Vigilância em Saúde. Guia de vigilância em saúde. 2017.
- Ministério da Saúde (BR). Casos de escorpionismo de 2000-2017. 2018. Disponível em: <http://portalms.saude.gov.br/saude-de-a-z/acidentes-por-animaispeconhentos/13692-situacao-epidemiologica-dados>.
- Murthy KRK, Haghazari L. The blood levels of glucagon, cortisol and insulin following the injection of venom by the scorpion (*Mesobuthus tamulus concanensis*, POCOCK) in dogs. *Journal of Venomous Animals and Toxins*. 1999;5(1):47-55.
- Nencioni ALA, Neto EB, de Freitas LA, Dorce VAC. Effects of Brazilian scorpion venoms on the central nervous system. *Journal of venomous animals and toxins including tropical diseases*. 2018;24(1):3.
- Nieman DC, Nehlsen-Cannarella SL. The effects of acute and chronic exercise of immunoglobulins. *Sports Med*. 1991;11(3):183-201.
- Nunan EA, Moraes MFD, Cardoso VN, Moraes-Santos T. Effect of age on body distribution of Tityustoxin from *Tityus serrulatus* scorpion venom in rats. *Life Sci*. 2003;73(3):319–25.
- Nunan EA, Cardoso VN, Moraes-Santos T. Lethal effect of the scorpion *Tityus serrulatus* venom: comparative study on adult and weanling rats Braz. *J Pharm Sci*. 2001;37(1):39-44.
- Nunan EA, Arya V, Hochhaus G, Cardoso VN, Moraes-Santos T. Age effects on the pharmacokinetics of tityustoxin from *Tityus serrulatus* scorpion venom in rats *Braz J Med Biol Res*. 2004;37:385-390.

- O'Connor GT, Buring JE, Yusuf S, Goldhaber SZ, Olmstead EM, Paffenbarger RS Jr, Hennekens CH. An overview of randomized trials of rehabilitation with exercise after myocardial infarction. *Circulation*. 1989;80(2):234–244.
- Padilla A, Possani LD, Larralde C. Experimental envenoming of mice with venom from the scorpion *Centruroides limpidus*: differences in mortality and symptoms with and without antibody therapy relating to differences in age, sex and strain of mouse. *Toxicon*. 2003;41(8):959-965.
- Park W, Jung WS, Hong K, Kim YY, Kim SW, Park HY. Effects of Moderate Combined Resistance- and Aerobic-Exercise for 12 Weeks on Body Composition, Cardiometabolic Risk Factors, Blood Pressure, Arterial Stiffness, and Physical Functions, among Obese Older Men: A Pilot Study. *Int J Environ Res Public Health*. 2020 Oct 3;17(19):7233. doi: 10.3390/ijerph17197233. PMID: 33022918; PMCID: PMC7579509.
- Pauli JR, Cintra DE, Souza C, Ropelle ER. New mechanisms by which physical exercise improves insulin resistance in the skeletal muscle. *Arq Bras Endoc Metabol*. 2009;53:399-408.
- Peres ACP, Nonaka PN, de Carvalho PTC, Toyama MH, Melo e Silva CA, Vieira RP, Dolhnikoff M, Zamuner SR, de Oliveira LVF. Effects of *Tityus serrulatus* scorpion venom on lung mechanics and inflammation in mice. *Toxicon*. 2009;53(7-8):779-785.
- Pessini AC, de Souza AM, Faccioli LH, Gregório ZM, Arantes EC. Time course of acute-phase response induced by *Tityus serrulatus* venom and TsTX-I in mice. *Int Immunopharmacol*. 2003;3(5):765-774.
- Pimenta RJG, Brandão-Dias PFP, Leal HG, Carmo AOD, Oliveira-Mendes BBRD, Chávez-Olórtegui C, Kalapothakis E. (2019). Selected to survive and kill: *Tityus serrulatus*, the Brazilian yellow scorpion. *PLoS one*, 2019;14(4), e0214075.
- Pinto MCL, Melo MM, Costa MER et al. Hematological and biochemical profiles of rats submitted to experimental poisoning with *Tityus serrulatus* venom. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*. 2010;62(2)350-356.
- Poortmans JR. Serum protein determination during short exhaustive physical activity. *J Appl Physiol*. 1970;30:190-2.
- Prendini, L.; Wheeler, W. C. 2005. Scorpion higher phylogeny and classification, taxonomic anarchy, and standards for peer review in online publishing. *Cladistics*, 21: 446-494.
- Pрут L, Belzung C. The open field as a paradigm to measure the effects of drugs on anxiety-like behaviors: a review. *European journal of pharmacology*. 2003;463(1-3)3-33.

Pucca MB, Cerni FA, Pinheiro Junior EL, Bordon KCF, Amorim FG, Cordeiro FA, et al. *Tityus serrulatus* venom—A lethal cocktail. *Toxicon*. 2015;108:272–284.

Queiroz, WJ. O processo produtivo do soro antiofídico: da crise a superação. [Dissertação de Mestrado]. Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais e Saúde. Goiânia: Universidade Católica de Goiás; 2005.

Ranallo RF, Rhodes EC. Lipid metabolism during exercise. *Sports Med*. 1998 Jul;26(1):29-42. doi: 10.2165/00007256-199826010-00003. PMID: 9739539.

Reckziegel GC, Pinto Júnior VL. Scorpionism in Brazil in the years 2000 to 2012. *J Venom Anim Toxins Incl Trop Dis*. 2014;20(46):1-8.

Reckziegel GC. Análise do escorpionismo no Brasil no período de 2000 a 2010. 103 f. [dissertação de Mestrado]. Mestrado em Educação. Brasília: Universidade de Brasília; 2013.

Revelo MP, Bambirra EA, Ferreira AP, Diniz CR, Chávez-Olórtegui C. Body distribution of *Tityus serrulatus* scorpion venom in mice and effects of scorpion antivenom. *Toxicon*. 1996;34(10):1119-1125.

Ribeiro EL, Melo MM, Pinto MCL, Labarrère CR, Guimarães PTC, Paes PRO, Leme FOP. Hemograma de cães submetidos ao envenenamento experimental por *Tityus serrulatus*. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*. 2009;61(1)135-143.

Ribeiro EL, Pinto MCL, Labarrère CR, Paes PRO, Paes-Leme FO, Chávez-Olórtegui C, Melo MM. Biochemical profile of dogs experimentally envenomed with *Tityus serrulatus* scorpion venom. *Toxicon*. 2010;55(6):1125-1131.

Ryan AS. Exercise in aging: its important role in mortality, obesity and insulin resistance. *Aging Health*. 2010;6(5):551–563.doi:10.2217/ahe.10.46.

Sagun G, Oguz A, Karagoz E, Filizer AT, Tamer G, Mesci B. Application of alternative anthropometric measurements to predict metabolic syndrome. *Clinics*. 2014;69(5):347-353.

Santos MSV, Silva CGL, Silva Neto B, Grangeiro Jr CRP, Lopes VHG, Teixeira Jr AG, DA, Luna JVCP, Cordeiro JB, Gonçalves Jr. J, Lima MAP. Clinical and epidemiological aspects of scorpionism in the world: a systematic review. *Wilderness Environ Med*. 2016;27(4):504–518.

Santos-da-Silva AP; Candido DM; Nencioni ALA; Kimura LF; Prezotto-Neto JP; Barbaro KC; Chalkidis HM; Dorce VAC. Some pharmacological effects of *Tityus obscurus* venom in rats and mice. *Toxicon*. 2017;126(1):51-58.

- Scoppetta F, Tartaglia, M, Renzone G, Avellini L, Gaiti A, Scaloni A, Chiaradia E. Plasma protein changes in horse after prolonged physical exercise: A proteomic study. *Journal of Proteomics*. 2012;75(14):4494–4504.
- Seibenhener ML, Wooten MC. Use of the Open Field Maze to measure locomotor and anxiety-like behavior in mice. *JoVE (Journal of Visualized Experiments)*. 2015;96:e52434.
- Silva, LCA. Purificação de fragmentos Fab a partir de solução de clivagem enzimática de IgG humana: cromatografia de pseudoafinidade com quelatos metálicos e fenil boronato como ligantes. [tese de Doutorado]. Campinas: Faculdade de Engenharia Química da Universidade Estadual de Campinas; 2014.
- Silva, LFJ. Produção de soro hiperimune no Instituto Vital Brazil: Estudo de caso orientado à sustentabilidade através da avaliação do ciclo de vida. [Dissertação de Mestrado]. Programa de Pós-Graduação em Tecnologia do centro Federal de Educação Tecnológica Celso Suckow da Fonseca. Rio de Janeiro: Centro Federal de Educação Tecnológica; 2012.
- Simpson RJ, McFarlin BK, McSporrán C, Spielmann G, o Hartaigh B, Guy K. Toll-like receptor expression on classic and pro-inflammatory blood monocytes after acute exercise in humans. *Brain Behav Immun*. 2009;23(2):232–239.
- Sjostrom L, Al-Abdulla IH, Rawat S, Smith DC, Landon J. - A comparison of ovine and equine antivenoms. *Toxicon*. 1994;32: 427-433.
- Soares KSR, Fonseca JLC, Bitencourt MAO, Silva Jr AA, Fernandes-Pedrosa MF. Serum production against *Tityus serrulatus* scorpion venom using cross-linked chitosan nanoparticles as immunoadjuvant. *Toxicon*. 2012;60(8):1349-1354.
- Soros antiaracnídicos (*Loxosceles* e *Phoneutria*) e antiescorpiônicos [bula de remédio]. São Paulo: Yamagushi; 2012.
- Souza DG, Tanaka K, Algemiro W, Dezena RA, Borges MM, Pereira CU, et al. Hemorrhagic stroke following scorpion sting. A case report. *Rev Chil Neurocirugía*. 2013;39:69–70.
- Swirski FK, Nahrendorf M, Etzrodt M, Wildgruber M, Cortez-Retamozo V, Panizzi P, Figueiredo JL, Kohler RH, Chudnovskiy A, Waterman P, Aikawa E, Mempel TR, Libby P, Weissleder R, Pittet MJ. Identification of splenic reservoir monocytes and their deployment to inflammatory sites. *Science*. 2009;325(5940):612–616.
- Teixeira VF, Conceição IM, Lebrun I, Nencioni AL, Dorce VAC. Intrahippocampal injection of TsTX-I, a beta-scorpion toxin, causes alterations in electroencephalographic recording and behavior in rats. *Life Sci*. 2010;87(15–16):501–506.

- Terada S, Yokozeki T, Kawanaka K, Ogawa K, Higuchi M, Ezaki O, Tabata I. Effects of high-intensity swimming training on GLUT-4 and glucose transport activity in rat skeletal muscle. *Journal of Applied Physiology*. 2001;90(6):2019-2024.
- Terra R, Silva SAGD, Pinto VS, Dutra PML. Effect of exercise on immune system: response, adaptation and cell signaling. *Revista Brasileira de Medicina do Esporte*. 2012;18(3):208-214.
- Thrall MA. *Veterinary Hematology and Clinical Chemistry*. Philadelphia: Lippincott; Williams & Wilkins, c2007, 518p.
- Toro AF, Malta MB, Soares SL, da Rocha GC, da Silva Lira M, de Oliveira TA, Barbaro KC. Role of IgG (T) and IgGa isotypes obtained from arachnidic antivenom to neutralize toxic activities of *Loxosceles gaucho*, *Phoneutria nigriventer* and *Tityus serrulatus* venoms. *Toxicon*. 2006;48(6):649-661.
- Treit D, Menard J, Royan C. Anxiogenic stimuli in the elevated plus-maze. *Pharmacol Biochem Behav*. 1993;44(2):463-469.
- Valle, F. P. Effects of strain, sex, and illumination on open-field behavior of rats. *Am J Psychol*. 1970;83(1):103-111.
- Van de Weert-van Leeuwen PB, Arets HG, Vand der Ent CK, Beekman JM. Infection, inflammation and exercise in cystic fibrosis. *Respir res*. 2013;14(1):1.
- Van der Meijden A, Coelho P, Rasko M. Variability in venom volume, flow rate and duration in defensive stings of five scorpion species. *Toxicon*. 2015;100:60-66.
- Walsh NP, Gleeson M, Shephard RJ, Gleeson M, Woods JA, Bishop NC, Fleshner M, Green C, Pedersen BK, Hoffman-Goetz L, Rogers CJ, Northoff H, Abbasi A, Simon P. Position statement. Part one: immune function and exercise. *Exerc Immunol Rev*. 2011;17:6-63.
- Wang J, Liu S, Li G, Xiao J. Exercise Regulates the Immune. *Physical Exercise for Human Health*. 2020;1228:395.
- World Health Organization. Rabies and envenomings. A neglected public health issue. Report of a consultative meeting [Internet]. Geneva: World Health Organization, c2007. 38 p.
- Xiao J, editor. *Physical Exercise for Human Health*, Springer Nature. 2020. 1228 vol.

ANEXO A – CARTA DE APROVAÇÃO COMITÊ DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS



CERTIFICADO

Certificamos que o projeto abaixo especificado, que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi **APROVADO** pelo Comitê de Ética no Uso de Animais – CEUA/UNESC, em reunião de **23/04/2019**.

Título do projeto	Avaliação dos efeitos de diferentes modelos de exercício físico sobre a produção de anticorpos em camundongos submetidos ao veneno do escorpião <i>Tityus serrulatus</i> Lutz & Mello, 1922
Project title	Evaluation of the effects of different physical exercise models on the production of antibodies in mice submitted to the venom of the scorpion <i>Tityus serrulatus</i> Lutz & Mello, 1922
Número do protocolo Protocol number	014/2018-2
Pesquisador principal Principal Investigator	Ricardo Andrez Machado de Ávila
Pesquisadores Researchers	Nathalia Coral Galvani, Mirian Ivens Fagundes, Bethina Trevisol Steiner, Rahisa Scoussel, Emily Côrneo, Ellen de Pieri, Haylla Santos de Souza, Jéssica da Silva Abel, João Annibal Queiroz.

Finalidade	<input type="checkbox"/> Ensino <input checked="" type="checkbox"/> Pesquisa Científica
Vigência da autorização	02/05/2018 a 02/12/2019
Espécie/linhagem/raça	Camundongo heterogênico
Idade/Peso	4 a 6 sem/18 a 22g
Gênero	Masculino e feminino
Número de animais	36
Origem	Biotério Unesc

The Ethics Committee on Animal Use on Research, sanctioned by the resolution number 03/2017/Câmara Propex, in accordance with federal law number 11.794/08, has analyzed the Project that was **Approved** in its ethical and methodological aspects. Any alteration of the original version of this project must be previously submitted to the Committee for further analyzes.

May you have further questions, please contact us by e-mail ceua@unesc.net.


Samira da Silva Valvasori
 Coordenadora do CEUA

Criciúma, 23 de Abril de 2019

ANEXO B

UNIVERSIDADE DO EXTREMO SUL CATARINENSE – UNESC

PRÓ-REITORIA ACADÊMICA - PROACAD

DIRETORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO

Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde

(Mestrado e Doutorado)

Recomendado pela CAPES – Homologado pelo CNE – Portaria N°

609 de 14.03.2019

TERMO DE AUTORIZAÇÃO PARA UTILIZAÇÃO DE OBRA

Tese, dissertação, livro, capítulo de livro, artigo, outros

1 DADOS DO AUTOR

- 1.1 NOME: João Anníbal Milano Peixoto Queiroz
- 1.2 CPF: 022.051.070-97
- 1.3 VÍNCULO COM A INSTITUIÇÃO: Acadêmico de doutorado em Ciências da Saúde
(Acadêmico de pós-graduação *stricto sensu*, docente, pesquisador, técnico-administrativo)

2 INFORMAÇÕES DA OBRA

- 2.1 IDENTIFICAÇÃO DA OBRA: Tese
(Tese, dissertação, livro, capítulo de livro, artigo, outros)

2.2 TÍTULO DA OBRA: Avaliação dos efeitos do exercício físico sobre a produção de anticorpos em animais inoculados com veneno do escorpião *Tityus serrulatus*

Na qualidade de titular dos direitos autorais relativos à obra acima descrita, o autor, com fundamento no artigo 29 da Lei n. 9.610/1998, autoriza a UNESC – Universidade do Extremo Sul Catarinense, a disponibilizar gratuitamente sua obra, sem ressarcimento de direitos autorais, para fins de leitura, impressão e/ou *download* pela internet, a título de divulgação da produção científica gerada pela UNESC, nas seguintes modalidades: a) disponibilização impressa no acervo da Biblioteca Prof. Eurico Back; b) disponibilização em meio eletrônico, em banco de dados na rede mundial de computadores, em formato especificado (PDF); c) Disponibilização pelo Programa de Comutação Bibliográfica – Comut, do IBICT (Instituto Brasileiro de Informação em Ciência e Tecnologia), órgão do Ministério de Ciência e Tecnologia.

Criciúma, 10 de setembro de 2022.



JOÃO ANNÍBAL MILANO PEIXOTO QUEIROZ

ANEXO C

TERMO DE AUTORIZAÇÃO PARA PUBLICAÇÃO DE DISSERTAÇÃO E TESE

1 DADOS DO AUTOR

1.1 NOME: João Anníbal Milano Peixoto Queiroz

1.2 CPF: 022.051.070-97

1.3 TELEFONE: (48) 996081595

1.4 PROGRAMA: Ciências da Saúde

1.5 NÍVEL: Doutorado

1.6 E-MAIL: queiroz.ja11@gmail.com

2 INFORMAÇÕES DA OBRA

2.1 TÍTULO DA OBRA: Avaliação dos efeitos do exercício físico sobre a produção de anticorpos em animais inoculados com veneno do escorpião *Tityus serrulatus*

3 RESTRIÇÃO PARA PUBLICAÇÃO

() Restringir¹ (X) Não restringir

Em caso de restrição, especifique o motivo:

¹ A íntegra do resumo e os metadados ficarão sempre disponibilizados

Período da restrição (embargo):

Na qualidade de titular dos direitos autorais relativos à obra acima descrita, o autor, com fundamento no artigo 29 da Lei n. 9.610/1998, autoriza a UNESC – Universidade do Extremo Sul Catarinense, a disponibilizar gratuitamente sua obra, sem ressarcimento de direitos autorais, para fins de leitura, impressão e/ou *download* pela internet, a título de divulgação da produção científica gerada pela UNESC, nas seguintes modalidades: a) disponibilização em meio eletrônico, em banco de dados na rede mundial de computadores, em formato especificado (PDF); b) Disponibilização pelo Programa de Comutação Bibliográfica – Comut, do IBICT (Instituto Brasileiro de Informação em Ciência e Tecnologia), órgão do Ministério de Ciência e Tecnologia.

Criciúma, 10 de setembro de 2022.



JOÃO ANNÍBAL MILANO PEIXOTO QUEIROZ