



UNIVERSIDAD DE ORIENTE
NÚCLEO DE SUCRE
ESCUELA DE CIENCIAS
DEPARTAMENTO DE BIOANÁLISIS

EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD BIOLÓGICA DEL VENENO DE TRES
ESPECIES VENEZOLANAS DE IMPORTANCIA MÉDICA DEL
GÉNERO *Tityus* (SCORPIONES, BUTHIDAE)
(Modalidad: Investigación)

YESENIA DEL VALLE COVA COVA

TRABAJO DE GRADO PRESENTADO COMO REQUISITO PARCIAL PARA
OPTAR AL TÍTULO DE LICENCIADA EN BIOANÁLISIS

CUMANA, JUNIO 2008

EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD BIOLÓGICA DEL VENENO DE TRES
ESPECIES VENEZOLANAS DE IMPORTANCIA MÉDICA DEL
GÉNERO *Tityus* (SCORPIONES, BUTHIDAE)

APROBADO POR:

Dr. Adolfo Borges
Asesor Académico

Dr. Leonardo De Sousa
Co-Asesor Académico

INDICE

DEDICATORIA	iv
AGRADECIMIENTOS	v
LISTA DE TABLAS	vi
LISTA DE FIGURAS	viii
RESUMEN.....	x
INTRODUCCIÓN	1
METODOLOGÍA	5
Muestra	5
Extracción Del Veneno.....	5
Determinación De La Concentración De Proteínas	5
Evaluación De La Dosis Letal 50 (DL ₅₀) Y De Los Signos De Toxicidad Aguda ...	6
Procesamiento De Datos	7
RESULTADOS.....	8
DISCUSIÓN	38
CONCLUSIONES	49
BIBLIOGRAFÍA	50

DEDICATORIA

A:

Dios Todopoderoso y a la Virgen Del Valle, por iluminarme cada segundo de mi vida.

Mi Madre Pia, por toda la dedicación. Por tí lo logre.

Mi Hija Yelenia, el amor más bello y puro en mi vida. Te amo.

Mis padres Pablo y Ramón (†) por darme fuerza espiritual. Los extraño.

Mis asesores Adolfo Borges y Leonardo De Sousa (el profe LDS), por guiarme en este fascinante y misterioso hábitat de los escorpiones. Gracias por su amistad y paciencia. Los Admiro.

Mis amigos: Johana, Indira, Briceida, Nohelia, Sandra, Hilda, Oscar, Mailins y Eduardo, por los buenos y malos momentos vividos en la “casa más alta” del Oriente Venezolano.

Todas las personas que han contribuido con este logro.

DIOS, por permitirme compartir con todos.

AGRADECIMIENTOS

A:

Los profesores Adolfo Borges y Leonardo De Sousa, por permitirme compartir parte del interesante mundo de las toxinas y venenos.

Centro de Investigaciones en Ciencias de la Salud (CICS), Universidad de Oriente, Núcleo de Anzoátegui y al Instituto de Estudios Avanzados (IDEA), Universidad Central de Venezuela, por permitirme utilizar sus instalaciones para el desarrollo de este trabajo de investigación.

Profesora Alicia Jorquera, por el apoyo brindado durante mi permanencia en las instalaciones del CICS.

Jessica Rodríguez y Pablo Cornejo, por haberme mostrado el camino para llegar hasta el CICS.

Leomery Romero, por el apoyo fundamental en la fase experimental y procesamiento de los resultados.

Celestina Rondón, Arleth Pozo, Dennis Hernández, Edgar Nounou, Lic. Rosa, Hermes Figuera y Sra. Alida Domínguez, por su apoyo incondicional.

Todas aquellas personas que de una u otra forma contribuyeron en la realización del presente trabajo.

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Datos para el cálculo de la DL ₅₀ del veneno de <i>Tityus nororientalis</i> en ratones C57BL/6, administrado por vía intraperitoneal, para una hora de observación.	8
Tabla 2. Datos para el cálculo de la DL ₅₀ del veneno de <i>Tityus discrepans</i> en ratones C57BL/6, administrado por vía intraperitoneal, para una hora de observación.....	9
Tabla 3. Datos para el cálculo de la DL ₅₀ del veneno de <i>Tityus zulianus</i> en ratones C57BL/6, administrado por vía intraperitoneal para una hora de observación.....	10
Tabla 4. Frecuencia de muerte y secuencia de dosis administradas, por vía intraperitoneal, del veneno de <i>Tityus nororientalis</i> en el modelo múrido C57BL/6. .	12
Tabla 5. Frecuencia de muerte y secuencia de dosis administradas, por vía intraperitoneal, del veneno de <i>Tityus discrepans</i> en el modelo múrido C57BL/6.....	13
Tabla 6. Frecuencia de muerte y secuencia de dosis administradas, por vía intraperitoneal, del veneno de <i>Tityus zulianus</i> en el modelo múrido C57BL/6.....	14
Tabla 8. Frecuencia de manifestaciones clínicas inducidas por toxicidad aguda del veneno de <i>Tityus nororientalis</i> , administrado por vía intraperitoneal, en ratones C57BL/6.....	20
Tabla 9. Frecuencia de manifestaciones clínicas inducidas por toxicidad aguda del veneno de <i>Tityus discrepans</i> , administrado por vía intraperitoneal, en ratones C57BL/6.....	20
Tabla 10. Frecuencia de manifestaciones clínicas inducidas por toxicidad aguda del veneno de <i>Tityus zulianus</i> , administrado por vía intraperitoneal, en ratones C57BL/6.	21
Tabla 11. Comparación del tiempo de aparición de los signos de toxicidad aguda entre ratones C57BL/6 que sobrevivieron y murieron al efecto tóxico inducido por el veneno de <i>Tityus nororientalis</i> administrado por vía intraperitoneal.	23
Tabla 12. Comparación del tiempo de aparición de los signos de toxicidad aguda	

entre ratones C57BL/6 que sobrevivieron y murieron al efecto tóxico inducido por el veneno de <i>Tityus discrepans</i> administrado por vía intraperitoneal.....	23
Tabla 13. Comparación del tiempo de aparición de los signos de toxicidad aguda entre ratones C57BL/6 que sobrevivieron y murieron al efecto tóxico inducido por el veneno de <i>Tityus zulianus</i> administrado por vía intraperitoneal.....	24
Tabla 14. Comparación de los tiempos de aparición de las manifestaciones clínicas inducidas por la toxicidad aguda del veneno de las tres especies de <i>Tityus</i> administrado por vía intraperitoneal en los ratones C57BL/6 fallecidos.....	29
Tabla 15. Comparación del tiempo de muerte de los ratones C7BL/6 como respuesta al efecto tóxico del veneno de las tres especie de <i>Tityus</i>	30
Tabla 16. Signos de envenenamiento escorpiónico en ratones C57BL/6, observados en este trabajo.....	40
Tabla 17. Comparación de las DL ₅₀ del veneno de ejemplares de <i>Tityus nororientalis</i> provenientes de tres localidades del nororiente de Venezuela.....	45

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Distribución geográfica relativa, en el territorio venezolano, de las tres especies del género <i>Tityus</i>	8
Figura 2. Determinación de la dosis letal cincuenta (DL ₅₀) del veneno de <i>Tityus nororientalis</i> por vip en ratones C57BL/6.	15
Figura 3. Determinación de la dosis letal cincuenta (DL ₅₀) del veneno de <i>Tityus discrepans</i> por vip en ratones C57BL/6.....	16
Figura 4. Determinación de la dosis letal cincuenta (DL ₅₀) del veneno de <i>Tityus zulianus</i> por vip en ratones C57BL/6.....	17
Tabla 7. Comparación de las DL ₅₀ del veneno de las tres especies de <i>Tityus</i> evaluadas.	17
Figura 5. Curso temporal de aparición de los signos de toxicidad aguda experimental inducidos por el veneno de <i>Tityus nororientalis</i> administrado por vip en ratones de la cepa C57BL/6.....	27
Figura 6. Curso temporal de aparición de los signos de toxicidad aguda experimental inducidos por el veneno de <i>Tityus discrepans</i> administrado por vip en ratones de la cepa C57BL/6.....	28
Figura 7. Curso temporal de aparición de los signos de toxicidad aguda experimental inducidos por el veneno de <i>Tityus zulianus</i> administrado por vip en ratones de la cepa C57BL/6.....	29
Figura 8. Comparación de un ratón C57BL/6 control con uno sobreviviente inyectado por vip con el veneno de <i>Tityus nororientalis</i> mostrando algunos signos de toxicidad aguda.	32
Figura 9. Ratón C57BL/6 sobreviviente inyectado por vip con el veneno de <i>Tityus nororientalis</i> mostrando la secuencia de presentación del signo de Straub.....	33
Figura 10. Comparación de un ratón C57BL/6 control con uno sobreviviente inyectado por vip con el veneno de <i>Tityus zulianus</i> mostrando algunos signos de....	35

Figura 11. Ratón C57BL/6 sobreviviente inyectado por vip con el veneno de *Tityus zulianus* mostrando algunos signos de toxicidad aguda..... 36

Figura 12. Comparación de un ratón sobreviviente C57BL/6 inyectado por vip con el veneno de *tityus nororientalis* con otro inyectado con el veneno de *Tityus zulianus*, mostrando algunos signos de toxicidad aguda. 36

Figura 13. Comparación de un ratón sobreviviente C57BL/6 inyectado por vip con el veneno de *tityus nororientalis* con otro inyectado con el veneno de *Tityus zulianus*, mostrando algunos signos de toxicidad aguda. 37

RESUMEN

El presente trabajo se realizó con el objeto de evaluar la utilidad de un modelo múrido para la comparación de los signos clínicos y el título letal de tres especies responsables del mayor número de accidentes en el país: *Tityus nororientalis* (región Nor-oriental), *Tityus discrepans* (región Centro-norte Costera) y *Tityus zulianus* (región Andina). La actividad biológica de los venenos estudiados fue ensayada luego de su inyección intraperitoneal en ratones C57BL/6 hembras de 17-24 g de peso. La letalidad fue cuantificada a través de la dosis letal media (DL₅₀), determinada según el método secuencial de Dixon y Mood. El efecto de los venenos también se evaluó a través de la determinación del tiempo de muerte y del tiempo de aparición de los signos de toxicidad. Los resultados indicaron que la letalidad (en mgkg⁻¹) del veneno de *T. nororientalis* [8,43 (7,94 – 8,91)] fue significativamente superior a la de *T. discrepans* [11,22 (10,61 – 11,91); *p* = 0,0008] y *T. zulianus* [14,13 (13,36 – 14,22); *p* = 0,00003]. En todos los casos, el cuadro indicó la neurotoxicidad aguda de los venenos ensayados. Los signos del envenenamiento fueron predominantemente colinérgicos (con algunas manifestaciones adrenérgicas y centrales), reproduciendo, en su mayoría, aquellos observados en humanos envenenados. Tales signos aparecieron significativamente de manera más temprana en el caso de *T. zulianus* en comparación con las especies central y oriental, predominando en el primero las manifestaciones cardiorrespiratorias y la parálisis del tren posterior. El tiempo de muerte (en minutos) fue significativamente inferior en el caso de *T. zulianus* (25,50) en comparación con *T. discrepans* (35,50; *p* = 0,015) y *T. nororientalis* (37,00; *p* = 0,36). Los resultados obtenidos indican que la especie andina produce en el modelo múrido un cuadro de neurotoxicidad más agudo que las otras especies, lo cual coincide con las observaciones en humanos. La menor letalidad del veneno de *T. zulianus* obtenida en este trabajo puede deberse, entre otros factores, a diferencias en la proporción de amino ácidos aromáticos de las toxinas de los tres venenos, factor que podría afectar el registro de absorbancia a 280 nm, método empleado para la cuantificación de proteínas. Los datos obtenidos confirman la elevada toxicidad de los venenos producidos por escorpiones de importancia médica en Venezuela y apoyan estudios previos que indican que, paralelamente a la diversidad taxonómica, existen diferencias amplias en toxicidad entre especies del mismo género.

INTRODUCCIÓN

Los escorpiones pertenecen al Phylum Arthropoda, Clase Arachnida, Orden Scorpiones (González-Sponga, 1996). Este orden está conformado por 20 familias (Prendini y Wheeler, 2005), entre ellas la familia Buthidae, la cual cuenta con 80 géneros, tiene la mayor distribución mundial y, al mismo tiempo, posee las especies de mayor importancia clínica y epidemiológica, debido a que su veneno es capaz de provocar la muerte en humanos (Lourenço y Cuellar, 1995; Biodi-Queiroz *et al.*, 1996; Spirandeli-Cruz, 1999; De Sousa *et al.*, 2000; Borges y De Sousa, 2006). En el continente americano, las especies más peligrosas pertenecen a los géneros *Tityus* y *Centruroides* (Scorpiones: Buthidae), cuyas toxinas son responsables de los casos de escorpionismo en el nuevo mundo, dando lugar a altas tasas anuales de morbilidad y mortalidad (Lourenço y Cuellar, 1995; Borges, 1996; De Sousa *et al.*, 2000; Borges y De Sousa, 2006; Gómez y Otero, 2007).

De las veinte familias existentes (Prendini y Wheeler, 2005), sólo cinco se encuentran en Venezuela, incluyendo 17 géneros y 184 especies (Rojas-Runjaic y De Sousa, 2007). En el territorio venezolano, hasta el año 2006, se habían descrito 52 especies de *Tityus* (Borges *et al.*, 2006a; De Sousa *et al.*, 2006a; Rojas-Runjaic y De Sousa, 2007). El género *Tityus* se encuentra ampliamente distribuido en nuestro país, habitando en general por encima de los 600 metros de altitud (Borges, 1996; González-Sponga, 1996; Quiroga *et al.*, 2000; De Sousa *et al.*, 2000; Quiroga *et al.*, 2004).

En Venezuela, el género *Tityus* se encuentra presente en un área donde habita una población estimada, para 1995, en 9 703 479 habitantes, por lo cual, el 45% de la población venezolana se encuentra en riesgo potencial de sufrir un contacto accidental con algún taxón de este género (De Sousa *et al.*, 2000). Existen estados potencialmente peligrosos como Anzoátegui, Monagas, Sucre, Trujillo, Zulia, Mérida, Táchira, Miranda, Carabobo, Falcón, Lara y Distrito Capital (Borges, 1996; González-Sponga, 1996; Quiroga *et al.*, 1999; De Sousa *et al.*, 2000). De Sousa *et al.* (2000) y, más recientemente, Borges y De Sousa (2006) han sugerido la existencia de grandes áreas (macroregiones) endémicas de escorpionismo debidas al género *Tityus*: (1) la Andina (estados Táchira, Mérida, Trujillo y zona sur del lago de Maracaibo); (2) la Centro-Occidental (estados Lara y Falcón); (3) la Centro-Norte-Costera (norte de los estados Carabobo y de Aragua, estados Miranda, Vargas y Distrito Capital), (4) la macroregión Nororiental [conformada por los estados Anzoátegui, Monagas y Sucre; abarcando el

macizo Oriental (sistema montañoso de Paria y la serranía de Turimiquire, con sus áreas de piedemonte)] e Insular (estado Nueva Esparta), (5) la Serranía de Perijá (estado Zulia), (6) la Deltana (estado Delta Amacuro), y, finalmente (7) la Guayano-Amazónica, abarcando los estados Amazonas (Subregión Amazónica) y Bolívar (Subregión Guayanesa).

En general, los escorpiones poseen hábitos nocturnos; durante el día se ocultan en sitios oscuros y en una variedad de microclimas, mientras que en la noche salen a capturar su alimento. (Manzanilla y De Sousa, 2003). En el hábitat domiciliario humano se localizan en sitios equivalentes a los de sus refugios en la naturaleza (Reyes-Lugo y Rodríguez-Acosta, 2001; Gómez *et al.*, 2002a; De Los Ríos, 2006). Estas características condicionan un incremento del posible contacto con el hombre, en especial con los niños, y fundamentalmente al inicio de la estación lluviosa (Mazzoti y Bravo, 1987; Machado-Allison y Rodríguez-Acosta, 1997; De Sousa *et al.*, 2000; Gómez *et al.*, 2002a; De Sousa *et al.*, 2005).

El envenenamiento por escorpiones peligrosos puede diferir en toxicidad, signos y síntomas; asociado a disfunción de los sistemas cardiovascular, respiratorio y nervioso, lo cual puede conducir a disfunción multiorgánica y muerte (Borges, 1996; De Sousa *et al.*, 2000). Clínicamente, el envenenamiento es polimórfico: se inicia con manifestaciones locales en el lugar de la inyección del veneno, caracterizado por dolor de fuerte intensidad (Borges, 1996). En los casos moderados y/o graves, durante las primeras horas del accidente, se observa diaforesis, sialorrea, vómitos, epifora, tos, broncorrea, disfagia, miosis o midriasis, temblores, contracciones de la musculatura esquelética, reflejos osteotendinosos exaltados, hipersensibilidad, priapismo, hipertonia visceral o distensión gastrointestinal, alteraciones de la frecuencia del ritmo respiratorio y cardíaco (De Sousa *et al.*, 1995; Borges, 1996; Otero *et al.*, 1998; Borges *et al.*, 1999; De Sousa *et al.*, 2000; Saldarriaga y Otero, 2000; Gómez *et al.*, 2002b; Borges *et al.*, 2004b; Otero *et al.*, 2004; De Sousa *et al.*, 2007).

La composición del veneno de los escorpiones es compleja; consiste en una mezcla de compuestos peptídicos de baja masa molar, entre 6 500 y 9 000 mr (Borges y De Sousa, 2006; Borges *et al.*, 2006a; Borges *et al.* 2006b). Su toxicidad, tanto en humanos, como en animales de experimentación, se atribuye principalmente a las proteínas básicas que contienen entre 58 y 78 aminoácidos unidos por cuatro puentes disulfuro, una elevada cantidad de aminoácidos aromáticos y la ausencia de metionina. Estas proteínas constituyen uno de los compuestos más potentes que se han aislado del veneno de estos

organismos y son herramientas esenciales para entender la dinámica de los canales iónicos; siendo éstos sus blancos de acción molecular (Borges *et al.*, 1990; Becerril *et al.*, 1997; Harvey *et al.*, 1998; Tsushima *et al.*, 1999; Borges *et al.*, 2004a; Borges *et al.*, 2004b; Barona *et al.*, 2006; Borges *et al.*, 2006b; Borges y Rojas-Runjaic, 2007; Borges *et al.*, 2008).

El sistema nervioso en vertebrados (el principal blanco de las toxinas escorpiónicas) se divide en el sistema nervioso central y el autonómico o periférico. Este último, comprende los sistemas nerviosos simpático y parasimpático, cuya estimulación determina la producción, a nivel de sus terminaciones pre y post-ganglionares, de los neurotransmisores acetilcolina y noradrenalina, respectivamente; cuya acción modula el ritmo fisiológico de los tejidos inervados por ambos sistemas. (Borges *et al.*, 1990; Becerril *et al.*, 1995; Becerril *et al.*, 1997; Harvey *et al.*, 1998; Tsushima *et al.*, 1999; Barona *et al.*, 2004; Borges *et al.*, 2004a; Borges *et al.*, 2004b; Barona *et al.*, 2006; Borges *et al.*, 2006b; Borges y Rojas-Runjaic, 2007; Borges *et al.*, 2008). Los componentes más letales de los venenos de escorpión de importancia médica actúan a nivel de las membranas de los tejidos excitables, produciendo despolarización sostenida a consecuencia de un aumento en la permeabilidad para Na^+ y K^+ , lo que en consecuencia produce tal liberación de neurotransmisores (Possani *et al.*, 1999).

Actualmente, en el Laboratorio de Biología Molecular [Sección de Biomembranas, Instituto de Medicina Experimental, Facultad de Medicina, Universidad Central de Venezuela (UCV)] y de Toxinas Animales [Centro de Biociencias y Medicina Molecular, Instituto de Estudios Avanzados (IDEA)], se estudia la diversidad de toxinas producidas por el género *Tityus*, en Venezuela; y en el Laboratorio de Toxinología [Centro de Investigaciones en Ciencias de la Salud (CICS), Universidad de Oriente, Núcleo Anzoátegui], se optimiza un método para determinar la actividad biológica del veneno de varias especies de escorpiones.

En el presente trabajo se evaluó la toxicidad del veneno de tres especies venezolanas del género *Tityus*, de reconocida importancia médica: *Tityus nororientalis* (región Nororiental), *Tityus discrepans* (región Centro-Norte-Costera) y *Tityus zulianus* (región Andina), con el fin de establecer la existencia de diferencias en sus títulos letales y en la sintomatología que se instala tras el envenenamiento agudo experimental por vía intraperitoneal. Adicionalmente, se aportan conocimientos básicos para la elaboración de un mapa de toxicidad de la escorpiofauna venezolana (Borges, 1996), basado en posibles

diferencias en la letalidad del veneno de las tres especies de escorpiones. De comprobarse esta hipótesis se sustentaría el concepto de las “Provincias Toxinológicas” (Borges y De Sousa, 2006), contribuyendo al conocimiento epidemiológico y clínico del envenenamiento causado por estos artrópodos.

METODOLOGÍA

Muestra

En la presente investigación se capturaron tres especies de escorpiones en sus ámbitos geográficos de distribución: *Tityus nororientalis* (n = 13 ejemplares) en el caserío Las Melenas (10°40'N, 62°37'W; municipio Mariño, estado Sucre), *Tityus discrepans* (n = 9) en los alrededores de San Antonio de Los Altos (10°20'N, 67°45'N; municipio Los Salías, estado Miranda) y *Tityus zulianus* (n = 7) en Santa Cruz de Mora, zona sur del Lago de Maracaibo (8°22'N, 71°43'W, municipio Pinto Salinas, estado Mérida). Durante el día los escorpiones fueron localizados bajo troncos, en el interior de la corteza parcialmente desprendida de los árboles, en el interior de troncos en proceso de descomposición y en la base de plantas de café (*Coffea arabica*). Durante la noche se siguió el procedimiento de captura similar, ayudado con lámparas portátiles de luz ultravioleta. Los ejemplares fueron trasladados al laboratorio, donde se mantuvieron vivos para extracción de su veneno.

Extracción Del Veneno

El veneno de los escorpiones se obtuvo mediante estimulación manual del telson, según técnica descrita por Shulov y Zlotkin (1969). Posteriormente, el veneno fue liofilizado (a -50°C y 80 mbar de presión) (Labconco-Freeze Dry Sistem/Freezone[®] 4.5) y almacenado a -20°C hasta su uso.

Determinación De La Concentración De Proteínas

En el momento de su utilización, el veneno fue reconstituido con agua bidestilada. Cuando fue necesario, se realizaron diluciones 1/5, 1/10 o 1/20 (μ l), como paso previo a la cuantificación de las proteínas contenidas en el veneno. Consecutivamente, la dilución se colocó en una cubeta de cuarzo de 1 ml (Thomas Scientific[®], modelo 8490-D41), para su lectura por espectrofotometría. Se determinó la concentración de proteínas mediante lectura de absorbancia en espectrofotómetro (Jenway[®], modelo 6405 UV/vis), a una longitud de onda de 280 nm, asumiendo que 1 unidad de absorbancia (a esta longitud) representó una concentración de 1 mg.ml⁻¹ (Possani *et al.* 1980). Alícuotas de 1 ml del veneno se almacenaron a -20 °C hasta el momento de evaluar su actividad biológica en el modelo múrido

(Parrilla-Álvarez, 1999; De Sousa, 2006).

Evaluación De La Dosis Letal 50 (DL₅₀) Y De Los Signos De Toxicidad Aguda

Se determinó la Dosis Letal Cincuenta (DL₅₀), para 60 minutos de experimentación, del veneno de *Tityus nororientalis*, *Tityus discrepans* y *Tityus zulianus*, por el método secuencial de Dixon y Mood (1948), modificado por Sevcik (1987), en ratones hembra, homocigotos, de la cepa C57BL/6 adquiridos en el bioterio del Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas (IVIC).

El veneno fue inyectado con una microjeringa Hamilton[®] de 50 µl de capacidad, por vía intraperitoneal (vip). Las dosis administradas se calcularon según el peso (balanza digital, Denver Instrument[®], modelo XS-3009) de cada animal experimental (tablas 1, 2 y 3). Para la administración del veneno se siguió el siguiente esquema de trabajo: en el primer ratón C57BL/6, por vip, se utilizó una dosis inicial de: $X_1 = \text{Anti-log (Anti-logaritmo) } 1 = 10 \mu\text{g.g}^{-1}$ de ratón. Si este primer animal respondió con la muerte, el segundo ratón recibió un *Anti-log* de la dosis: $X_2 = \text{Anti-log Dosis}(X_1) - d$. Si el primer animal se mantuvo vivo, entonces, el segundo recibió un *Anti-log* de la dosis: $X_2 = \text{Anti-log Dosis}(X_1) + d$. En estos experimentos el *Anti-log* de la dosis (X) fue modificado por un factor constante [$d = 0,05$]. El procedimiento continuó y la dosis del siguiente animal fue: $X_n = X_m - d$, si el animal m respondió con la muerte con la dosis *Anti-log* X_m ; o bien: $X_n = X_m + d$, si el ratón m se mantuvo vivo con la dosis *Anti-log* X_m . La corrida válida se consideró completa al obtener cuatro ciclos muerte-no muerte o no muerte-muerte [† 0 † 0 † 0 † 0 ⊗, ó 0 † 0 † 0 † 0 † ⊗; donde † indicó muerte, 0 supervivencia y ⊗ la dosis que debería ser administrada al siguiente animal (punto final)]. Para establecer las DL₅₀ se calcularon las medianas de las dosis a partir del primer punto de inflexión que incluye además el valor de la dosis que recibiría el siguiente animal [punto final: ⊗] (De Sousa *et al.*, 2008).

Los signos clínicos, expresados como efecto de toxicidad aguda experimental inducida por la inyección intraperitoneal del veneno de las tres especies, fueron observados meticulosamente durante los 60 minutos de experimentación y tabulados cronológicamente. Al finalizar el tiempo establecido de observación, la población de ratones sobrevivientes al efecto del veneno, fue sacrificada con vapores de cloroformo. Se utilizaron animales testigo a los cuales se administró solución fisiológica en volúmenes similares a los del grupo experimental. Todos los animales se mantuvieron con alimentación e

hidratación *ad libitum* (De Sousa *et al.*, 2008).

Procesamiento De Datos

El programa Excel V-5.1 (Microsoft Corporation[®], 2002) se utilizó para automatizar los cálculos y para elaborar las gráficas de las DL₅₀. Todos los resultados experimentales se procesaron por métodos estadísticos no paramétricos o de libre distribución: (a) se calcularon las medianas (de los datos válidos a partir del punto de inflexión), según Hodges y Lehmann y sus límites de confianza (entre paréntesis) al 95 % de certeza para la DL₅₀ y el tiempo de aparición de los signos de toxicidad aguda experimental y (b) las diferencias entre las medianas fueron probadas por la técnica de análisis de variancia de Kruskal-Wallis, con un nivel de significación $p < 0,05$ (De Sousa *et al.*, 2008). Para el procesamiento de los datos se utilizó el programa V-8.2 desarrollado por el Dr. Sevcik, Laboratorio de Neurofarmacología Celular, Centro de Biofísica y Bioquímica, IVIC, estado Miranda (De Sousa, 2002).

RESULTADOS

En la figura 1 se muestra el mapa de ubicación geográfica, en el territorio venezolano, de las tres especies de importancia médica de *T. nororientalis*, *T. discrepans* y *T. zulianus*.

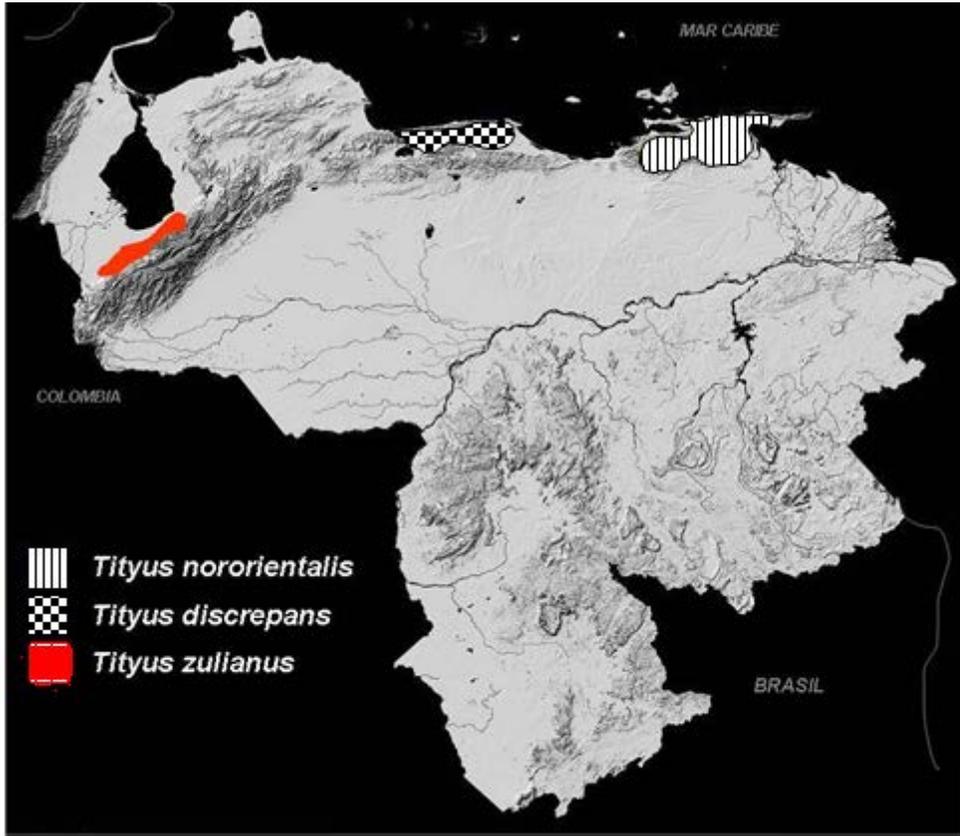


Figura 1. Distribución geográfica relativa, en el territorio venezolano, de las tres especies del género *Tityus*.

En las tablas 1, 2 y 3 se presentan, respectivamente, los datos necesarios para el cálculo de las DL_{50} del veneno de *Tityus nororientalis*, *Tityus discrepans* y *Tityus zulianus* en ratones hembra, C57BL/6, observadas durante 60 minutos.

Tabla 1. Datos para el cálculo de la DL_{50} del veneno de *Tityus nororientalis* en ratones C57BL/6, administrado por vía intraperitoneal, para una hora de observación.

RATÓN (n)	PESO (g)	DOSIS (Anti-Log)	DOSIS ($\mu\text{g} \otimes \text{gr}^{-1}$)	DOSIS TOTAL	VOLUMEN (μl)	MUERTE (minutos)
--------------	-------------	---------------------	---	----------------	------------------------------	---------------------

		1)		(μg)			
CORRIDA NO VÁLIDA							
1	17,58	A:	1,00	10,00	175,8	7,50	†: 23
2	20,18	B:	0,95	8,91	179,80	7,68	†: 20
CORRIDA VÁLIDA							
3	19,20	C:	0,90	7,94	152,51	6,51	0
4	18,53	B:	0,95	8,91	165,10	7,05	†: 34
5	17,82	C:	0,90	7,94	141,49	6,04	†: 40
6	21,91	D:	0,85	7,08	155,12	6,62	0
7	18,52	C:	0,90	7,94	147,05	6,28	0
8	19,42	B:	0,95	8,91	173,08	7,39	0
9	18,86	A:	1,00	10,00	188,6	8,05	†: 34
10	22,09	B:	0,95	8,91	196,82	8,41	0
11	20,74	A:	1,00	10,00	207,40	8,85	†: 39
12	21,91	B:	0,95	8,91	195,22	8,33	†: 23
13	22,72	C:	0,90	7,94	180,39	7,70	†: 45
14	20,08	D:	0,85	7,08	147,24	6,29	0
15	19,76	C:	0,90	7,94	156,96	6,70	0
16	21,10	B:	0,95	8,91	187,11	7,98	†: 40
				Total	2.749,69		
SIGUIENTE ANIMAL							
17		C:	0,90	7,94			⊗

Ratones válidos: R₃→R₁₆ +R₁₇

Control: R_c, 13,10 g de peso corporal; inyectado vip con 50 μl de solución fisiológica.

A: *Anti-Log* 1,00 = 10,00 ≈ 10,00

B : *Anti-Log* 0,95 = 8,912509381 ≈ 8,91

C: *Anti-Log* 0,90 = 7,943282347 ≈ 7,94

D: *Anti-Log* 0,85 = 7,079457844 ≈ 7,08

†: Ratón con *exitus letales*; ⊗: Punto final

Tabla 2. Datos para el cálculo de la DL₅₀ del veneno de *Tityus discrepans* en ratones C57BL/6, administrado por vía intraperitoneal, para una hora de observación.

RATÓN (n)	PESO (g)	DOSIS (<i>Anti-Log</i>)	DOSIS (μg ⊗ gr ⁻¹)	DOSIS TOTAL (μg)	VOLUMEN (μl)	MUERTE (minutos)
--------------	-------------	------------------------------	-----------------------------------	---------------------	-----------------	---------------------

CORRIDA NO VÁLIDA

1	20,58	A:	1,00	10,00	205,80	12,78	0
CORRIDA VÁLIDA							
2	21,62	B:	1,05	11,22	242,58	15,07	†: 37
3	23,15	A:	1,00	10,00	231,50	14,38	0
4	22,46	B:	1,05	11,22	252,00	15,65	0
5	21,77	C:	1,10	12,59	274,08	17,02	†: 32
6	21,65	B:	1,05	11,22	242,91	15,08	†: 43
7	21,96	A:	1,00	10,00	219,60	13,63	0
8	21,98	A:	1,05	11,22	246,62	15,32	0
9	23,45	B:	1,10	12,59	295,45	18,34	†: 34
10	20,44	B:	1,05	11,22	229,34	14,24	†: 37
11	22,35	A:	1,00	10,00	223,35	13,88	0
12	24,87	B:	1,05	11,22	279,04	17,33	0
13	22,71	C:	1,10	12,59	285,92	17,76	†: 33
Total					3.022,39		
SIGUIENTE ANIMAL							
14		A:	1,05	11,22			⊗

Ratones válidos: $R_2 \rightarrow R_{13} + R_{14}$

Control: R_C , 12,02 g de peso corporal; inyectado vip con 50 μ l de solución fisiológica.

A: *Anti-Log* 1,00 = 10,00

B: *Anti-Log* 1,05 = 11,22018454 \approx 11,22

C: *Anti-Log* 1,10 = 12,58925412 \approx 12,59

†: Ratón con *exitus letales*; ⊗: Punto final

Tabla 3. Datos para el cálculo de la DL_{50} del veneno de *Tityus zulianus* en ratones C57BL/6, administrado por vía intraperitoneal para una hora de observación.

RATÓN (n)	PESO (g)	DOSIS (<i>Anti-Log</i>)	DOSIS (μ g \otimes gr ⁻¹)	DOSIS TOTAL (μ g)	VOLUMEN (μ l)	MUERTE (minutos)	
CORRIDA NO VÁLIDA							
1	17,93	A:	1,00	10,00	179,3	18,00	0
2	25,46	B:	1,05	11,22	285,66	28,85	0
3	25,63	C:	1,10	12,59	322,68	32,59	0

CORRIDA VÁLIDA

4	25,70	D:	1,15	14,13	363,14	36,68	†: 31
5	25,56	C:	1,10	12,59	321,78	32,50	0
6	23,17	D:	1,15	14,13	327,39	33,05	†: 31
7	23,86	C:	1,10	12,59	300,4	30,34	†: 27
8	25,83	B:	1,05	11,22	289,81	29,27	0
9	24,03	C:	1,10	12,59	302,52	30,56	0
10	23,53	D:	1,15	14,13	332,48	33,58	0
11	19,80	E:	1,20	15,84	313,81	31,70	†: 20
12	17,68	D:	1,15	14,13	249,82	25,23	†: 31
13	18,20	C:	1,10	12,59	229,14	23,14	0
14	20,48	D:	1,15	14,13	289,38	29,23	0
15	21,75	E:	1,20	15,84	344,52	34,80	†: 18
16	17,94	D:	1,15	14,13	253,41	25,60	0
Total					4.974,24		

SIGUIENTE ANIMAL

17		E:	1,20	15,84			⊗
----	--	----	------	-------	--	--	---

Ratones válidos: $R_4 \rightarrow R_{16} + R_{17}$

Control: R_c , 13,52 g de peso corporal; inyectado vip con 50 μ l de solución fisiológica.

A: *Anti-Log* 1,00 = 10,00 \approx 10,00

B: *Anti-Log* 1,05 = 11,22018454 \approx 11,22

C: *Anti-Log* 1,10 = 12,58925412 \approx 12,59

D: *Anti-Log* 1,15 = 14,12537545 \approx 14,13

D: *Anti-Log* 1,20 = 15,84893192 \approx 15,85

†: Ratón con *exitus letales*; ⊗: Punto final

El total de ratones C57BL/6 para la determinación de la DL_{50} fue de $n = 17$ [corrida + siguiente animal (punto final)] para *Tityus nororientalis*, $n = 14$ [corrida + siguiente animal (punto final)] para *Tityus discrepans* y $n = 17$ [corrida + siguiente animal (punto final)] para *Tityus zulianus*. Para cada veneno se utilizó un ratón control, el cual no desarrolló ninguna manifestación clínica de toxicidad aguda posterior a la inyección de 25 μ l de solución fisiológica por vía intraperitoneal. El punto de inflexión (fenómeno muerte no-muerte o no-muerte muerte) se ubicó en R_3 para el veneno de *Tityus nororientalis*, en R_2 para *Tityus discrepans* y en R_4 para *Tityus zulianus*. A partir de estos puntos se consideró la corrida secuencial válida para la determinación de las DL_{50} y de los efectos de toxicidad aguda experimental del veneno de estas tres especies.

Las corridas válidas para calcular las DL₅₀ se conformaron de la siguiente manera: (a) para *Tityus nororientalis*, desde R₃ hasta R₁₆ + R₁₇ (punto final) [n = 15], (b) para *Tityus discrepans* desde R₂ hasta R₁₃ + R₁₄ (punto final) [n = 13] y para *Tityus zulianus* desde R₄ hasta R₁₆ + R₁₇ (punto final) [n = 14].

Las corridas válidas para evaluar los signos de toxicidad aguda experimental se conformaron de la siguiente manera: (a) para *Tityus nororientalis*, desde R₃ hasta R₁₆ [n = 14], (b) para *Tityus discrepans* desde R₂ hasta R₁₃ [n = 12] y para *Tityus zulianus* desde R₄ hasta R₁₆ [n = 13].

La cantidad de veneno utilizado en cada determinación fue de 2 749,60 µg (2,75 mg) para *Tityus nororientalis*, 3 022,39 µg (3,02 mg) para *Tityus discrepans* y de 4 974,24 µg (4,97 mg) para *Tityus zulianus*.

La frecuencia de muerte causada por la administración del veneno de las tres especies de *Tityus* se presenta en las tablas 4, 5 y 6.

Tabla 4. Frecuencia de muerte y secuencia de dosis administradas, por vía intraperitoneal, del veneno de *Tityus nororientalis* en el modelo múrdo C57BL/6.

Artículo I.	RATÓN	Anti-log Dosis (µg × g ⁻¹ de ratón)			
		1,00 (10,00 µg × g ⁻¹) DOSIS A	0,95 (8,91 µg × g ⁻¹) DOSIS B	0,90 (7,94 µg × g ⁻¹) DOSIS C	0,85 (7,08 µg × g ⁻¹) DOSIS D
Artículo II.			Artículo III. Artículo IV.	CORRIDA NO VÁLIDA	Artículo V.
1	†: 23		†: 20		
2					
					CORRIDA VÁLIDA
3				0	
4			†: 34		
5				†: 40	
6					0
7				0	
8			0		
9	†: 34				
10			0		
11	†: 39				
12			†: 23		
13				†: 45	

14				0
15			0	
16		†: 40		
SIGUIENTE ANIMAL				
17			⊗	
<hr/>				
FRECUENCIA DE MUERTE [†] CORRIDA VÁLIDA n = 7 (100%)	2 (28,6 %)	3 (42,9 %)	2 (28,6 %)	0 (0 %)
<hr/>				

Para el veneno de *Tityus nororientalis*, la mayor periodicidad de muerte (n = 3, 42,9%) ocurrió con la dosis B (8,91 $\mu\text{g}\times\text{g}^{-1}$). Con las dosis A (10,00 $\mu\text{g}\times\text{g}^{-1}$) y C (7,94 $\mu\text{g}\times\text{g}^{-1}$) la frecuencia fue 28,6% (n = 2). Cuando se administró la dosis D (7,08 $\mu\text{g}\times\text{g}^{-1}$) todos los ratones sobrevivieron. Para el veneno de *Tityus discrepans* se obtuvo, una frecuencia de

Tabla 5. Frecuencia de muerte y secuencia de dosis administradas, por vía intraperitoneal, del veneno de *Tityus discrepans* en el modelo múrido C57BL/6.

RATÓN	Anti-log Dosis ($\mu\text{g} \otimes \text{g}^{-1}$ de ratón)		
	1,00 (10,00 $\mu\text{g} \times \text{g}^{-1}$) DOSIS A	1,05 (11,22 $\mu\text{g} \times \text{g}^{-1}$) DOSIS B	1,10 (12,59 $\mu\text{g} \times \text{g}^{-1}$) DOSIS C
	CORRIDA NO VÁLIDA		
1	0		
	CORRIDA VÁLIDA		
2		†: 37	
3	0		
4		0	
5			†: 32
6		†: 43	
7	0		
8		0	
9			†: 34
10		†: 37	
11	0		
12		0	
13			†: 33

	SIGUIENTE ANIMAL		
14	⊗		
FRECUENCIA DE MUERTE [†]) CORRIDA VÁLIDA	0 (0%)	3 (50,0%)	3 (50,0%)
n = 6 (100%)			

50,0% (n = 3) con la dosis B (11,22 $\mu\text{g}\times\text{g}^{-1}$) y 50,0% (n = 3) con la C (12,59 $\mu\text{g}\times\text{g}^{-1}$), respectivamente. Cuando se administró la A (10,00 $\mu\text{g}\times\text{g}^{-1}$) todos los ratones sobrevivieron. Con el veneno de *Tityus zulianus* el 50,0% (n = 3) de muerte se obtuvo con la dosis D (14,13 $\mu\text{g}\times\text{g}^{-1}$), seguida de 33,3% (n = 2) con la dosis E (15,84 $\mu\text{g}\times\text{g}^{-1}$) y 16,7 % (n = 1) con la dosis C (12,59 $\mu\text{g}\times\text{g}^{-1}$). Cuando se administró la A (10,00 $\mu\text{g}\times\text{g}^{-1}$)

Tabla 6. Frecuencia de muerte y secuencia de dosis administradas, por vía intraperitoneal, del veneno de *Tityus zulianus* en el modelo mudo C57BL/6.

RATÓN	Anti-log Dosis ($\mu\text{g} \otimes \text{g}^{-1}$ de ratón)				
	1,00 (10,00 $\mu\text{g} \times \text{g}^{-1}$) DOSIS A	1,05 (11,22 $\mu\text{g} \times \text{g}^{-1}$) DOSIS B	1,10 (12,59 μg $\times \text{g}^{-1}$) DOSIS C	1,15 (14,13 μg $\times \text{g}^{-1}$) DOSIS D	1,20 (15,84 $\mu\text{g} \times \text{g}^{-1}$) DOSIS E
	CORRIDA NO VÁLIDA				
1	0				
2		0			
3			0		
	CORRIDA NO VÁLIDA				
4				†: 31	
5			0		
6				†: 31	
7			†: 27		
8		0			
9			0		
10				0	
11					†: 20
12				†: 31	
13			0		
14				0	
15					†: 18
16				0	
	SIGUIENTE ANIMAL				
7					⊗

FRECUENCIA DE MUERTE [†] CORRIDA VÁLIDA	0 (0 %)	1 (16,7 %)	3 (50,0 %)	2 (33,3%)
n = 6 (100%)				

†: indica muerte; 0: indica sobrevivencia; ⊗: indica siguiente animal (punto final del experimento)

Todos los ratones sobrevivieron.. Cuando se administró la B ($11,22 \mu\text{g}\times\text{g}^{-1}$) todos los ratones sobrevivieron. Las DL_{50} , para 60 minutos de observación, del veneno de *Tityus nororientalis*, *Tityus discrepans* y *Tityus zulianus* administrados por vip, en ratones hembra C57BL/6, se presentan en figuras 2, 3 y 4. Las DL_{50} se calcularon por el método no paramétrico de Hodges y Lehmann; y el resultado se presenta como la mediana y sus límites al 95% de confianza (entre paréntesis). La DL_{50} del veneno de *Tityus nororientalis* fue de $8,43 (7,94 - 8,91) \text{ mg}\times\text{kg}^{-1}$ (figura 1), la de *Tityus discrepans* igual a $11,22 (10,61 - 11,91) \text{ mg}\times\text{kg}^{-1}$ (figura 2) y para *Tityus zulianus* de $14,13 (13,36 - 14,22) \text{ mg}\times\text{kg}^{-1}$ (figura 3).

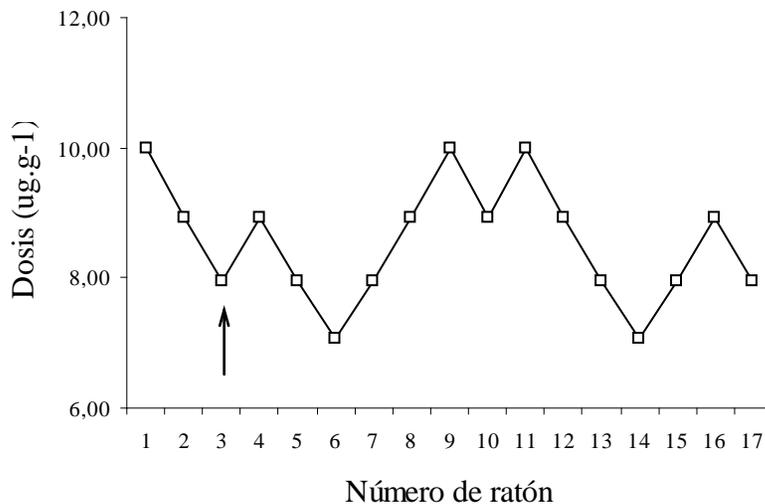


Figura 2. Determinación de la dosis letal cincuenta (DL_{50}) del veneno de *Tityus nororientalis* por vip en ratones C57BL/6.

Ratones hembra cepa C57BL/6 con pesos entre 17,58 y 22,72 g fueron inyectados vip con el

veneno de *Tityus nororientalis*. Los animales fueron observados por 60 minutos. La flecha indica el punto de inflexión e inicio de los datos válidos para el cálculo de la DL_{50} . El resultado se presenta como la mediana y sus límites (entre paréntesis) para un 95% de confianza: DL_{50} , vip, 60 minutos = $8,43 (7,94 - 8,91) \text{ mg}\times\text{kg}^{-1}$ de ratón.

En la tabla 7 se presenta la comparación de las DL_{50} de las tres especies. La DL_{50} del veneno de

Tityus nororientalis fue significativamente menor que la de *Tityus discrepans*, y éste a su vez, menor que la de *Tityus zulianus*.

En las tablas 8, 9 y 10 se presentan las frecuencias de los signos clínicos inducidos por efecto de toxicidad aguda experimental del veneno de *Tityus nororientalis*, *Tityus discrepans* y *Tityus zulianus* inyectado en ratones C57BL/6.

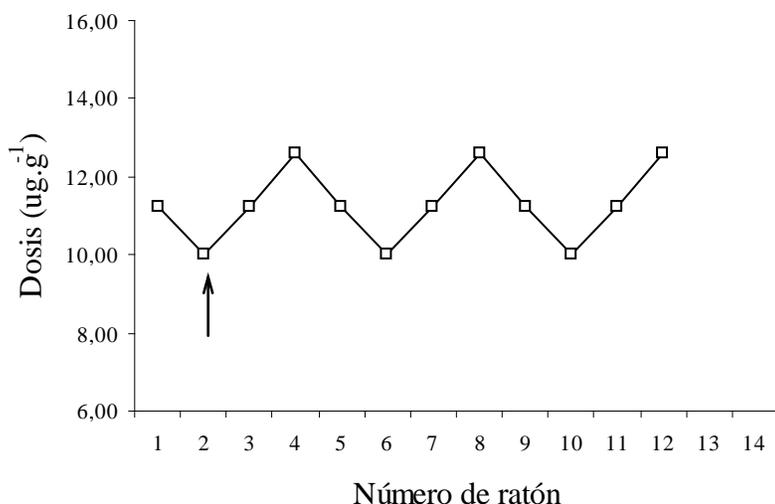


Figura 3. Determinación de la dosis letal cincuenta (DL₅₀) del veneno de *Tityus discrepans* por vip en ratones C57BL/6.

Ratones hembra cepa C57BL/6 con pesos entre 20,58 y 24,87 g fueron inyectados vip con el veneno

de *Tityus discrepans*. Los animales fueron observados por 60 minutos. La flecha indica el punto de inflexión e inicio de los datos válidos para el cálculo de la DL₅₀. El resultado se presenta como la mediana y sus límites (entre paréntesis) para un 95% de confianza: DL₅₀, vip, 60 minutos = 11,22 (10,61-11,91) mg × kg⁻¹ de ratón.

En el 100% de los casos correspondientes a la corrida valida, se observó para *Tityus nororientalis* hiperactividad, piloerección, alteración de la marcha, movimientos deglutorios, secreción ocular, signo de Straub y disnea (RST, RFA y bradipnea/apnea). En el 92,9%, se observó rascado de nariz-boca, hipotonía del tren anterior y posterior y convulsiones. Seguidamente en el 85,7% convulsiones, temblores generalizados y sialorrea escasa. Entre 78,6% y el 71,4% sialorrea abundante, exoftalmos y lengua cianótica; rinorrea en el 64,3%, defecación líquida y parálisis espástica en el 50,0% de los ratones. Con menor frecuencia, defecación sólida (21,4%) e hiperextensión (14,3%).

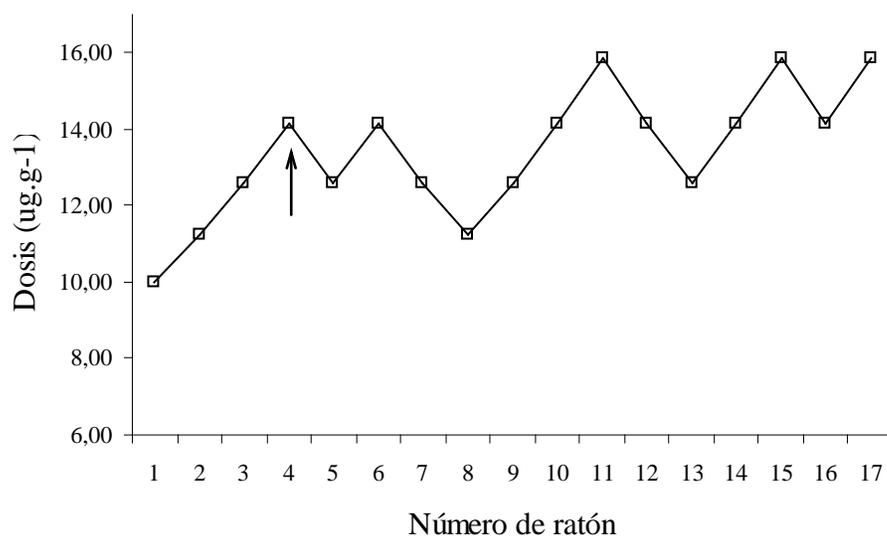


Figura 4. Determinación de la dosis letal cincuenta (DL_{50}) del veneno de *Tityus zulianus* por vip en ratones C57BL/6.

Ratones hembra cepa C57BL/6 con pesos entre 17,68 y 25,83 g fueron inyectados vip con el veneno de *Tityus zulianus*. Los animales fueron observados por 60 minutos. La flecha indica el punto de inflexión e inicio de los datos válidos para el cálculo de la DL_{50} . El resultado se presenta como la mediana y sus límites (entre paréntesis) para un 95% de confianza: DL_{50} , vip, 60 minutos = 14,13 (13,36-14,22) $mg \times kg^{-1}$ de ratón.

Tabla 7. Comparación de las DL_{50} del veneno de las tres especies de *Tityus* evaluadas.

	Especie		
	<i>Tityus nororientalis</i>	<i>Tityus discrepans</i>	<i>Tityus zulianus</i>
DL_{50}	8,43	11,22	14,13
Límites de confianza	7,94 – 8,91	10,61 – 11,91	13,36 – 14,22
Kruskall – Wallis		18,95	14,51
p		0,00008	0,0007

Para el veneno de *Tityus discrepans* el 100% de los casos presentó las siguientes manifestaciones

clínicas: hiperactividad, piloerección, rascado nariz-boca, alteración de la marcha, movimientos deglutorios, secreción ocular, signo de Straub, exoftalmos, temblores generalizados, disnea (RST, RFA y bradipnea/apnea) y sialorrea abundante. Con una frecuencia de 91,7% hipoactividad, convulsiones y defecación pastosa. Con 83,3% sialorrea escasa e hipotonía del tren posterior. En el 75% de los ratones se observó rinorrea e hipotonía del tren anterior. Con menor frecuencia parálisis espástica (50%), defecación líquida (50%) o sólida (41,7%).

Para *Tityus zulianus* la mayor frecuencia (100%) de signos fueron: hiperactividad, piloerección, alteración en la marcha, movimientos deglutorios, signo de Straub, secreción ocular, disnea (RST, RFA y bradipnea/apnea) y sialorrea abundante. En el 92,3%: temblores generalizados, hipotonía del tren posterior y anterior, rascado de nariz-boca, defecación pastosa (con moco) y convulsiones. En el 84,6% sialorrea escasa, exoftalmos y lengua cianótica. Otros signos fueron rinorrea (69,2%), defecación líquida y parálisis espástica (53,8%). Con menor frecuencia hiperextensión del tronco (23,1%) y defecación sólida (15,4%).

En las tablas 11, 12 y 13 se presentan los tiempos de aparición de los signos clínicos inducidos por efecto de toxicidad aguda experimental del veneno de *Tityus zulianus*, *Tityus nororientalis* y *Tityus discrepans* inyectado en ratones C57BL/6.

El tiempo de aparición de los signos con cualquiera de los tres venenos fue variable en los animales de la corrida válida. Para *Tityus nororientalis* en los primeros 10 minutos hiperactividad, seguida inmediatamente, de signo de Straub, hiperextensión del tronco, marcha atáxica, piloerección, movimientos deglutorios, rascado de nariz-boca, rinorrea, hipoactividad, sialorrea (de escasa, evolucionando a abundante) y disnea, caracterizada por respiración superficial torácica. Entre 10 y 20 minutos se instalaron los signos de exoftalmos, hipotonía del tren anterior y posterior, convulsiones y disnea caracterizada por respiración forzada abdominal. Tardíamente, después de los 30 minutos, se instaló disnea caracterizada por periodos de bradipnea alternada con apnea, hasta finalmente la aparición de parálisis espástica con muerte del animal. La disnea, caracterizada por respiración con periodos de bradipnea/apnea, presentó diferencias significativas en el tiempo de aparición cuando se comparó el grupo de ratones que fallecieron a los efectos tóxicos del veneno con el grupo de los sobrevivientes. Este signo se instaló más tempranamente en los animales que murieron por efecto tóxico del veneno.

Tabla 8. Frecuencia de manifestaciones clínicas inducidas por toxicidad aguda del veneno de *Tityus nororientalis*, administrado por vía intraperitoneal, en ratones C57BL/6.

Ratón (n) ⇔ Signo de Toxicidad ↓	MUERTOS							VIVOS							N	%
	R ₄	R ₅	R ₉	R ₁₁	R ₁₂	R ₁₃	R ₁₆	R ₃	R ₆	R ₇	R ₈	R ₁₀	R ₁₄	R ₁₅		
Hiperactividad	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	14	100
Piloerección	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	14	100
Alteración de la marcha	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	14	100
Movimientos deglutorios	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	14	100
Secreción ocular	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	14	100
Signo de Straub	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	14	100
RST	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	14	100
Disnea																
RFA	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	14	100
B/A	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	14	100
Rascado de nariz-boca	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	13	92,9
Hipotonía tren anterior	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	13	92,9
Hipotonía tren posterior	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	13	92,3
Convulsiones	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	12	85,7
Temblores generalizados	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	12	85,7
Sialorrea																
Escasa	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	+	12	85,7
Abundante	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	-	-	10	71,4
Sólida *	+	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	3	21,4
Defecación																
Pastosa *	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	11	78,6
Líquida *	-	+	-	+	+	-	+	-	+	+	+	-	-	-	7	50,0
Exoftalmos	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	-	11	78,6
Lengua cianótica	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	-	11	78,6
Hipoactividad	+	+	-	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	-	10	71,4
Rinorrea	+	-	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	9	64,3
Parálisis espástica	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	7	50,0
Hiperextensión tronco	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	2	14,3

RST = Respiración superficial torácica

RFA = Respiración forzada abdominal

B/A = Bradipnea/Apnea

* con o sin moco

Tabla 9. Frecuencia de manifestaciones clínicas inducidas por toxicidad aguda del veneno de *Tityus discrepans*, administrado por vía intraperitoneal, en ratones C57BL/6.

	MUERTOS	VIVOS	N	%
--	---------	-------	---	---

Ratón (n) ⇔ Signo de Toxicidad ↓	R ₂ R ₅ R ₆ R ₉ R ₁₀ R ₁₃						R ₃ R ₄ R ₇ R ₈ R ₁₁ R ₁₂						N	%
	R ₂	R ₅	R ₆	R ₉	R ₁₀	R ₁₃	R ₃	R ₄	R ₇	R ₈	R ₁₁	R ₁₂		
Hiperactividad	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	12	100
Piloerección	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	12	100
Rascado de nariz-boca	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	12	100
Alteración de la marcha	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	12	100
Movimientos deglutorios	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	12	100
Secreción ocular	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	12	100
Signo de Straub	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	12	100
Exoftalmos	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	12	100
Temblores generalizados	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	12	100
RST	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	2	+	12	100
Disnea														
RFA	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	12	100
B/A	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	12	100
Sialorrea														
Escasa	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	10	83,3
Abundante	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	12	100
Hipoactividad	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	11	91,7
Convulsiones	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	11	91,7
Sólida *	+	-	-	-	-	-	+	-	+	-	+	+	5	41,7
Defecación														
Pastosa *	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	11	91,7
Líquida *	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	+	-	6	50,0
Hipotonía tren posterior	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	10	83,3
Rinorrea	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	9	75,0
Hipotonía tren anterior	+	+	-	+	-	+	+	+	-	+	+	+	9	75,0
Parálisis espástica	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	6	50,0

RST = Respiración superficial torácica

RFA = Respiración forzada abdominal

B/A = Bradipnea/Apnea

* con o sin moco

Tabla 10. Frecuencia de manifestaciones clínicas inducidas por toxicidad aguda del veneno de *Tityus zulianus*, administrado por vía intraperitoneal, en ratones C57BL/6.

Ratón (n) ⇔ Signo de Toxicidad ↓	MUERTOS						VIVOS							N	%
	R ₄	R ₆	R ₇	R ₁₁	R ₁₂	R ₁₅	R ₅	R ₈	R ₉	R ₁₀	R ₁₃	R ₁₄	R ₁₆		
Hiperactividad	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	13	100
Piloerección	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	13	100

Alteración de la marcha		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	13	100
Movimientos deglutorios		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	13	100
Signo de Straub		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	13	100
Secreción ocular		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	13	100
	RST	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	13	100
Disnea	RFA	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	13	100
	B/A	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	12	100
Temblores generalizados		+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	12	92,3
Hipotonía tren anterior		+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	12	92,3
Hipotonía tren posterior		+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	12	92,3
Rascado de nariz-boca		+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	12	92,3
Convulsiones		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	12	92,3
Sialorrea	Escasa	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	11	84,6
	Abundante	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	13	100
	Sólida *	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	2	15,4
Defecación	Pastosa *	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	12	92,3
	Líquida *	-	+	-	+	-	+	-	+	+	+	-	+	7	53,8
Exoftalmos		+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	11	84,6
Lengua cianótica		+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	11	84,6
Rinorrea		+	-	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	9	69,2
Parálisis espástica		+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	7	53,8
Hiperextensión tronco		-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-	3	23,1

Tabla 11. Comparación del tiempo de aparición de los signos de toxicidad aguda entre ratones C57BL/6 que sobrevivieron y murieron al efecto tóxico inducido por el veneno de *Tityus nororientalis* administrado por vía intraperitoneal.

<i>Signo de Toxicidad</i> ↓	TIEMPO DE APARICIÓN DE LOS SIGNOS DE TOXICIDAD (MINUTOS)		KRUSKAL- WALLIS	P
	SOBREVIVIENTES MEDIANA [LÍMITES AL 95%]	MUERTOS MEDIANA [LÍMITES AL 95%]		
Hiperactividad	0,00 [0,00 – 0,00]		-	ns
Signo de Straub	2,00 [2,00 – 2,50]		0,25	ns
Hiperextensión del tronco	2,00 [2,00 – 3,00]		-	ns
Marcha Atáxica	3,00 [2,50 – 3,00]		0,08	ns
Piloerección	3,50 [3,00 – 4,00]		0,25	ns
Movimientos deglutorios	6,00 [4,50 – 7,00]		0,18	ns
Rascado de nariz-boca	7,00 [5,50 – 9,00]		0,006	ns
Sialorrea	Escasa	7,00 [6,00-8,00]	1,29	ns
	Abundante	8,50 [1,00-10,00]	0,92	ns
Hipoactividad	7,50 [5,50 – 9,00]		0,28	ns
Rinorrea	8,00 [6,50 – 9,50]		1,50	ns
Secreción ocular	8,50 [6,50 – 10,50]		1,84	ns
Temblores generalizados	10,00 [6,50 – 13,00]		0,42	ns
Exoftalmos	11,50[10,00 – 13,00]		1,51	ns
	RST	8,00 [6,50 – 10,50]	0,86	ns
Disnea	RFA	19,00 [16,50 – 22,00]	0,008	ns
	B/A	32,00 [29,50 – 35,00] 27,50 [25,00 – 30,00]	9,00	0,01
Hipotonía tren posterior	12,50 [10,50 – 14,50]		1,29	ns
Convulsiones**	13,00 [10,00 – 15,50]		1,11	ns
Defecación	Pastosa	13,50 [10,00 – 17,00]	0,10	ns
Hipotonía tren anterior		18,50 [15,00 – 21,50]	2,38	ns
Parálisis espástica		37,00 [31,50 – 40,00]		
Estado final	Vivo	60 [60,00-60,00]		
	Muerto		37,00 [31,50 – 40,00]	

Tabla RST = Respiración Superficial Torácica
RFA = Respiración Forzada Abdominal
B/A = Bradipnea/Apnea
* con o sin moco
** Tónico-Clónicas
KW: Kruskal-Wallis
p: probabilidad
ns: no significativo

12.

Comparación del tiempo de aparición de los signos de toxicidad aguda entre ratones C57BL/6 que sobrevivieron y murieron al efecto tóxico inducido por el veneno de *Tityus discrepans* administrado por vía intraperitoneal.

<i>Signo de Toxicidad</i> ↓	TIEMPO DE APARICIÓN DE LOS SIGNOS DE TOXICIDAD (MINUTOS)		KRUSKAL- WALLIS	P
	SOBREVIVIENTES MEDIANA [LÍMITES AL 95%]	MUERTOS MEDIANA [LÍMITES AL 95%]		
Hiperactividad	0,00 [0,00 – 0,00]		-	ns
Marcha Atáxica	3,00 [2,00 – 4,00]		0,006	ns
Piloerección	3,50 [2,50 – 4,50]		0,23	ns
Hipoactividad	7,00 [5,50 – 10,50]		1,63	ns
Sialorrea	Escasa	8,50 [8,00 – 9,50]	1,26	ns
	Abundante	14,50 [13,00 – 16,00]	0,16	ns
Disnea	RST	9,50 [8,00 – 12,50]	0,56	ns
	RFA	19,50 [17,00 – 20,50]	0,008	ns
	B/A	43,00 [40,00 – 46,50]	30,50 [28,00 – 33,50]	7,41
Movimientos deglutorios	10,00 [7,50 – 12,50]		0,23	ns
Rascado de nariz-boca	12,50 [10,00 – 16,00]		0,025	ns
Secreción ocular	14,00 [13,00 – 15,50]		0,025	ns
Temblores generalizados	14,00 [4,50 – 26,50]		0,52	ns
Rinorrea	18,00 [14,00 – 21,00]		2,16	ns
Exoftalmos	22,00 [20,00 – 23,50]		0,92	ns
Hipotonía tren posterior	23,50 [19,50 – 27,00]		2,13	ns
Defecación	Pastosa *	10,50 [9,00 – 12,50]	-	ns
	Sólida *	9,00 [8,00 – 10,00]	2,70	ns
	Líquida *	28,00 [24,00 – 34,00]	2,00	ns
Parálisis espástica **		33,50 (33,00 – 38,50)		
Estado final	Vivo	60 [60,00-60,00]		
	Muerto		33,50 (33,00 – 38,50)	

Tabla

RST = Respiración Superficial Torácica
RFA = Respiración Forzada Abdominal
B/A = Bradipnea/Apnea
* con o sin moco
** Tónico-Clónicas
KW: Kruskal-Wallis
p: probabilidad
ns: no significativo

13.

Comparación del tiempo de aparición de los signos de toxicidad aguda entre ratones C57BL/6 que sobrevivieron y murieron al efecto tóxico inducido por el veneno de *Tityus zulianus* administrado por vía intraperitoneal.

<i>Signo de Toxicidad</i>	TIEMPO DE APARICIÓN DE LOS SIGNOS DE TOXICIDAD (MINUTOS)	KRUSKAL- WALLIS	P
---------------------------	--	--------------------	---

		SOBREVIVIENTES MEDIANA [LÍMITES AL 95%]	MUERTOS MEDIANA [LÍMITES AL 95%]	
Hiperactividad		0,00 [0,00 – 0,00]	-	ns
Hiperextensión del tronco		2,50 [2,00 – 3,00]	-	ns
Marcha Atáxica		2,50 [2,00 - 3,00]	0,06	ns
Signo de Straub		2,50 [1,50 – 3,00]	0,41	ns
Piloerección		4,50 [3,50 – 5,00]	0,00	ns
Secreción ocular		6,00 [5,00 – 7,00]	2,13	ns
Sialorrea	Escasa	6,50 [5,50 – 7,00]	3,53	ns
	Abundante	8,50 [7,00 – 10,00]	5,21	ns
Hipotonía tren posterior		7,00 [4,00 – 10,00]	0,13	ns
Hipoactividad		7,50 [5,00 – 12,00]	0,27	ns
Rascado de nariz-boca		8,00 [5,50 – 10,00]	0,10	ns
Rinorrea		8,00 [6,50 – 20,50]	6,00	ns
Disnea	RST	8,00 [4,50 – 13,00]	0,41	ns
	RFA	17,00 [12,50 – 22,50]	5,77	ns
	B/A	29,50 [27,00 – 33,00]	20,50 [15,00 – 26,00]	3,68 ns
Movimientos deglutorios		10,50 [9,00 - 12,00]	0,27	ns
Defecación	Pastosa *	11,00 [8,00 - 30,50]	1,64	ns
Convulsiones**		11,50 [7,00 – 14,50]	0,30	ns
Exoftalmos		12,50 [10,50 – 15,00]	4,36	ns
Temblores generalizados		13,50 [8,50 – 16,50]	0,03	ns
Hipotonía tren anterior		15,00 [11,50 – 19,00]	3,33	ns
	Parálisis espástica		25,50 [20,00 – 31,00]	
Estado final	Vivo Muerto	60 [60,00-60,00]	25,50 [20,00 – 31,00]	

RST = Respiración Superficial Torácica

RFA = Respiración Forzada Abdominal

B/A = Bradipnea/Apnea

* con o sin moco

** Tónico-Clónicas

KW: Kruskal-Wallis

p: probabilidad

ns: no significativo

Para *Tityus discrepans*, en los primeros 10 minutos, hiperactividad, seguida inmediatamente, de marcha atáxica, piloerección, hipoactividad, sialorrea escasa, defecación sólida evolucionando a pastosa, movimientos deglutorios y disnea, caracterizada por respiración superficial torácica. Entre 10 y 20 minutos se observaron signos de rascado de nariz-boca, secreción ocular, temblores generalizados, rinorrea y respiración forzada abdominal. Después de los 20 minutos, exoftalmos, defecación líquida, bradipnea/apnea hasta finalmente parálisis espástica en los animales que murieron por efecto del veneno.

Los periodos de bradipnea/apnea presentaron diferencias significativas en el tiempo de aparición, cuando se comparó el grupo de ratones que fallecieron a los efectos tóxicos del veneno con el grupo de los sobrevivientes (se instaló más tempranamente en los animales que murieron por efecto tóxico del veneno).

Para *Tityus zulianus*, en los primeros 10 minutos, hiperactividad, seguida inmediatamente, de hiperextensión del tronco, marcha atáxica, piloerección, secreción ocular, hipotonía del tren posterior, hipoactividad, rinorrea y rascado de nariz-boca, signo de staub, sialorrea (escasa que evoluciona a abundante), disnea caracterizada por respiración superficial torácica y movimientos deglutorios. Entre 10 y 20 minutos, defecación pastosa, convulsiones, exoftalmos, temblores generalizados, hipotonía del tren anterior y respiración forzada abdominal. Después de los 20 minutos, bradipnea/apnea hasta finalmente parálisis espástica en los animales que murieron por efecto del veneno. Los periodos de bradipnea/apnea presentaron diferencias significativas en el tiempo de aparición, cuando se comparó el grupo de ratones que fallecieron a los efectos tóxicos del veneno con el grupo de los sobrevivientes (este signo se instaló más tempranamente en los animales que murieron por efecto tóxico del veneno).

En las figuras 5, 6 y 7; se presenta el curso temporal de aparición de los signos de toxicidad aguda experimental inducidas por el veneno de *Tityus nororientalis*, *Tityus discrepans* y *Tityus zulianus* en ratones hembra C57BL

En todos los casos la toxicidad se inició con hiperactividad, e inmediatamente después el signo de Straub. En el espectro medio de toxicidad moderadamente grave, ocurre sialorrea abundante, disnea (caracterizada por respiración torácica superficial) y exoftalmos. Previo a los signos de toxicidad severa, surge en los ratones: convulsiones e hipotonía del tren anterior y posterior. En todos los casos, la toxicidad grave se expresó como disnea identificada como respiración forzada abdominal evolucionando a bradipnea-apnea y finalmente parálisis espástica.

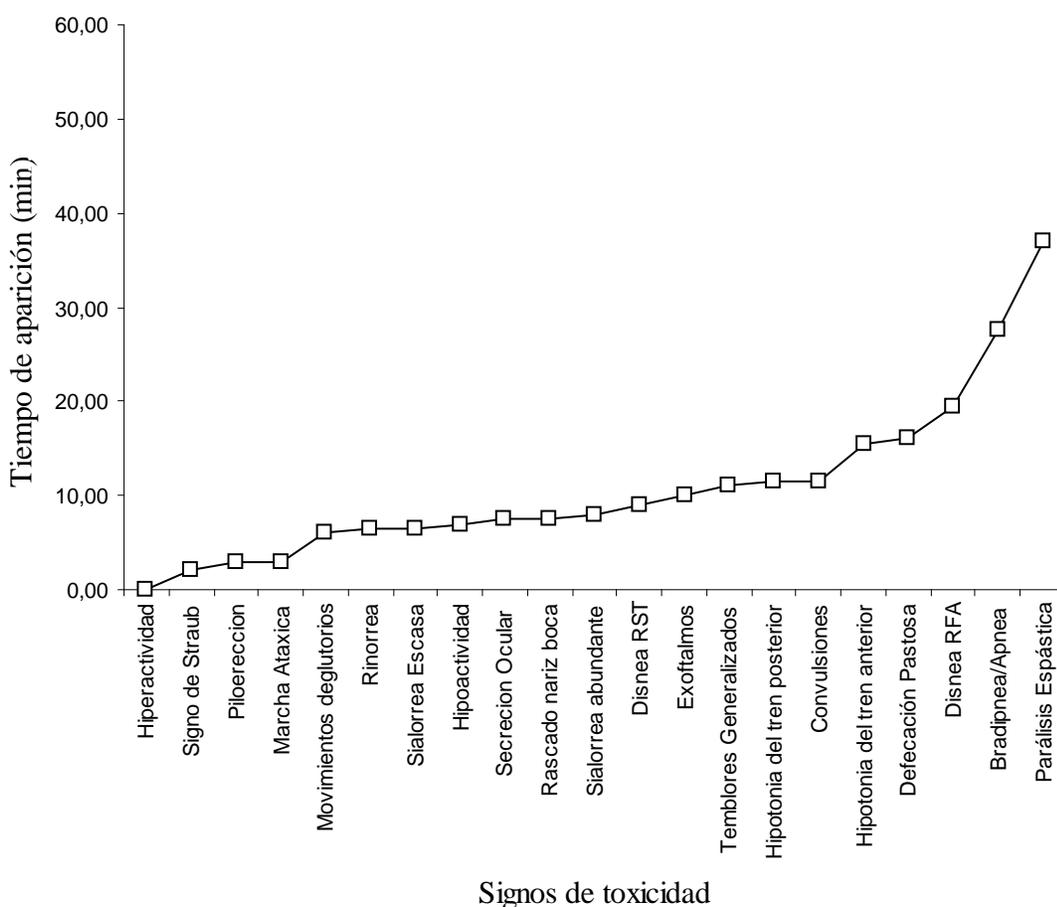
En la tabla 14 se presenta la comparación del tiempo de aparición de los signos clínicos inducidos por efecto de toxicidad aguda experimental del veneno de *Tityus nororientalis*, *Tityus discrepans* y *Tityus zulianus* inyectado en ratones C57BL/6 fallecidos.

Se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los venenos de *Tityus nororientalis* y *Tityus zulianus* cuando se compararon los signos caracterizados por periodos de bradipnea/apnea y parálisis espástica. Estos se instalaron de forma más temprana en los animales experimentales cuando se utilizó el veneno de *Tityus zulianus*; respectivamente a los 20,5 y 25,5 minutos en comparación con los 27,5 y 37,0 minutos para el veneno de *Tityus nororientalis*.

Las mayores diferencias se establecieron entre los venenos de *Tityus zulianus* y *Tityus discrepans*. Los signos con diferencias significativas se instalaron de forma más temprana en los animales experimentales, cuando se utilizó el veneno de *Tityus zulianus* que el veneno de *Tityus discrepans*: secreción ocular (5,5 minutos vs 14,5 minutos), hipotonía del tren posterior (8,5 vs 20,0), exoftalmos (9,5 vs 21,5), respiración forzada abdominal 10,5 vs 19,5), periodos de bradipnea/apnea (20,5 vs 30,5) y parálisis espástica (25,5 vs 35,5).

Cuando se comparó el veneno de *Tityus nororientalis* y *Tityus discrepans* no se encontraron diferencias significativas en el tiempo de aparición de los signos de toxicidad aguda experimental.

Figura 5. Curso temporal de aparición de los signos de toxicidad aguda experimental inducidos por el veneno de



veneno de *Tityus nororientalis* administrado por vip en ratones de la cepa C57BL/6.

Ratones hembra, de la corrida válida, con pesos entre 17,58 y 22,72 g inyectados por vip con el veneno de *Tityus nororientalis* fueron

observados por 60 minutos. Los signos clínicos fueron registrados cronológicamente.

En la tabla 15 se presenta la comparación del tiempo de muerte por efecto de toxicidad aguda experimental del veneno de *Tityus nororientalis*, *Tityus discrepans* y *Tityus zulianus* inyectado en ratones C57BL/6. Los ratones inyectados con los venenos de *Tityus zulianus* murieron significativamente más rápido (25,5 minutos) que aquellos inyectados con el veneno de *Tityus discrepans* (35,5 minutos) o *Tityus nororientalis* (37,0 minutos). Entre estos dos no se encontraron diferencias significativas en el tiempo de muerte. minutos. Los signos clínicos fueron registrados cronológicamente.

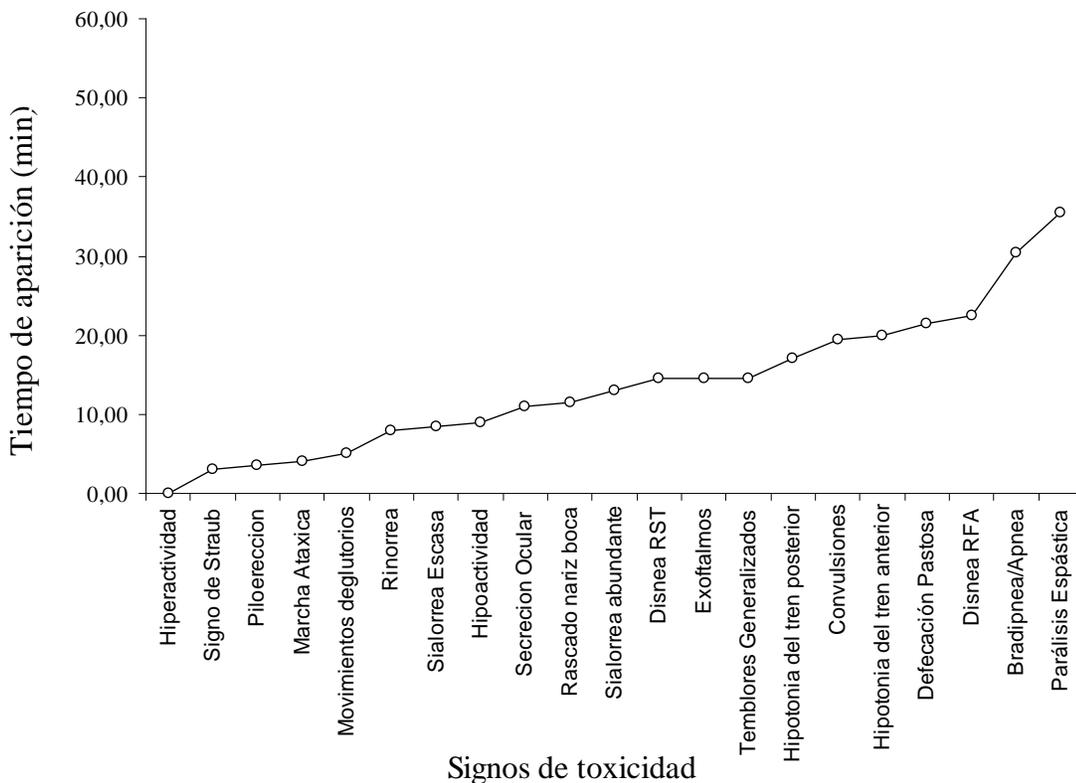


Figura 6. Curso temporal de aparición de los signos de toxicidad aguda experimental inducidos por el veneno de *Tityus discrepans* administrado por vip en ratones de la cepa C57BL/6.

Ratones hembra, de la corrida válida, con pesos entre 20,58 y 24,87 g inyectados por

vip con el veneno de *Tityus discrepans* fueron observados por 60

Algunos efectos relevantes de toxicidad aguda se presentan en las figuras 8, 9, 10, 11, 12 y 13: facies tóxica y piloerección, signos de potente estimulación muscarínica (sialorrea, secreción ocular y defecación pastosa). Otros signos observados: Signo de Straub, convulsiones e hipotonía muscular. Los signos antes de morir fueron los periodos de irregularidad en la amplitud y frecuencia respiratoria (bradipnea/apnea que producen en el ratón cianosis peribucal). La parálisis espástica se manifestó inmediatamente antes de la muerte de todos los ratones (el animal adoptaba una posición parecida al opistótono con hiperextensión del tren posterior). Todos los ratones, antes del *exitus letalis*, presentaron apnea prolongada.

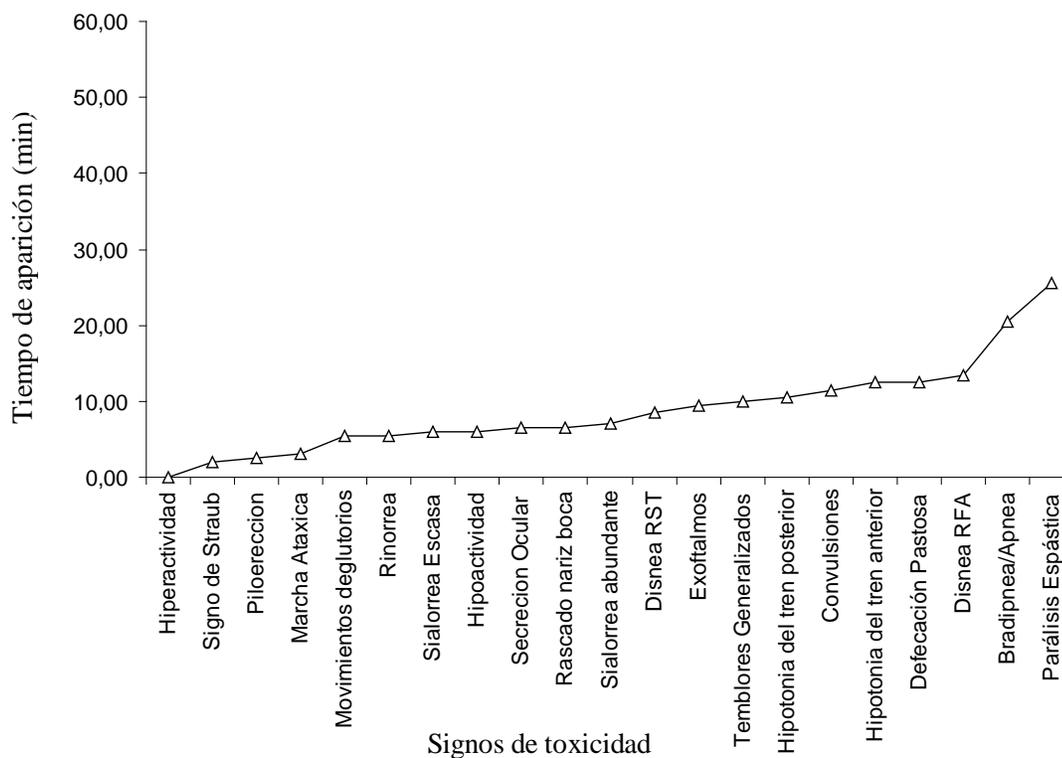


Figura 7. Curso temporal de aparición de los signos de toxicidad aguda experimental inducidos por el veneno de *Tityus zulianus* administrado por vip en ratones de la cepa C57BL/6.

Ratones hembra, de la corrida válida, con pesos entre 17,58 y 25,83 g inyectados por vip con el veneno de *Tityus zulianus* fueron observados por 60 minutos. Los signos clínicos fueron registrados cronológicamente

Tabla 14. Comparación de los tiempos de aparición de las manifestaciones clínicas inducidas por la toxicidad aguda del veneno de las tres especies de *Tityus* administrado por vía intraperitoneal en los ratones C57BL/6 fallecidos.

Signo de Toxicidad ↓	TIEMPO DE APARICIÓN DE LOS SIGNOS DE TOXICIDAD (MINUTOS)
-------------------------	---

	<i>Tityus nororientalis</i>	KW; p	<i>Tityus zulianus</i>	KW; p	<i>Tityus discrepans</i>
Hiperactividad	0,00 [0,00 – 0,00]		0,00 [0,00 – 0,00]		0,00 [0,00 – 0,00]
Signo de Straub	2,00 [1,50 – 2,50]		2,00 [1,00 – 4,00]		4,00 [2,00 – 6,00]
Piloerección	3,00 [2,50 – 4,00]		3,00 [2,50 – 6,00]		3,50 [2,50 – 4,50]
Marcha Atáxica	3,00 [2,50 – 3,00]		2,50 [2,00 – 3,00]		3,00 [1,50 – 4,00]
Movimientos deglutorios	6,00 [3,50 – 8,00]		10,00 [8,50 – 11,00]		11,00 [6,00 – 15,00]
Rinorrea	6,50 [4,00 – 9,00]		6,00 [4,00 – 7,00]	6,00; 0,05	14,50 [12,50 – 17,50]
Hipoactividad	7,00 [4,00 – 9,00]		7,00 [4,00 – 14,00]		5,00 [4,00 – 11,00]
Secreción ocular	7,50 [5,50 – 8,50]		5,50 [4,00 – 6,50]	8,30; 0,016	14,50 [12,00 – 16,50]
Rascado de nariz-boca	7,50 [5,00 – 10,00]		6,50 [5,00 – 8,50]		13,00 [10,00 – 15,00]
Exoftalmos	10,00 [9,50 – 12,50]		9,50 [8,50 – 12,00]	7,50; 0,02	21,50 [19,50 – 22,50]
Temblores generalizados	11,00 [7,50 – 13,50]		13,50 [7,00 – 20,00]		11,50 [4,00 – 17,50]
Hipotonía tren posterior	11,50 [10,00 – 13,00]		8,50 [6,00 – 10,50]	7,50; 0,02	20,00 [15,50 – 26,00]
Convulsiones**	11,50 [9,00 – 14,00]		12,50 [7,00 – 16,50]		17,00 [9,00 – 25,00]
Hipotonía tren anterior	15,50 [13,50 – 19,00]		11,50 [9,00 – 15,00]		22,50 [20,00 – 24,50]
RST	9,00 [7,00 – 11,00]		6,00 [2,00 – 11,00]		9,00 [6,00 – 11,00]
Disnea RFA	19,50 [14,00 – 25,00]		10,50 [5,00 – 16,00]	8,31; 0,016	19,50 [17,00 – 20,50]
B/A	27,50 [25,00 – 30,00]	5,89; 0,05	20,50 [15,00 – 26,00]	8,31; 0,016	30,50 [28,00 – 33,50]
Sialorrea Escasa	6,50 [5,00 – 7,50]		5,50 [4,00 – 6,50]		8,00 [7,00 – 10,00]
Abundante	8,00 [6,00 – 10,00]		6,50 [5,00 – 8,00]	8,30; 0,015	14,50 [12,00 – 17,00]
Defecación pastosa *	16,00 [8,50 – 22,50]		12,50 [8,00 – 28,00]		8,50 [8,00 – 9,00]
Parálisis espástica	37,00 [31,50 – 40,00]	5,89; 0,05	25,50 [20,00 – 31,00]	8,31; 0,016	35,50 [33,00 – 38,50]

RST= Respiración Superficial Torácica

RFA = Respiración Forzada Abdominal

BA = Bradipnea/Apnea

* con o sin moco

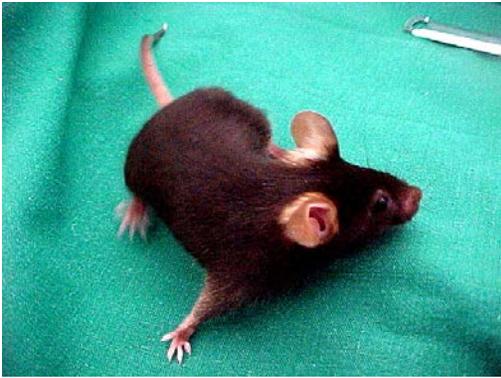
** Tónico-Clónicas

KW: Kruskal-Wallis (se presentan solo los valores significativos)

p: probabilidad (se presentan solo los valores significativos)

Tabla 15. Comparación del tiempo de muerte de los ratones C7BL/6 como respuesta al efecto tóxico del veneno de las tres especie de *Tityus*.

	Especie		
	<i>Tityus zulianus</i>	<i>Tityus discrepans</i>	<i>Tityus nororientalis</i>
Tiempo de muerte	25,50	35,50	37,00
Límites de confianza	20,00 – 31,00	33,00 – 38,50	31,50 – 40,00
Kruskall – Wallis		8,31	0,51
<i>p</i>		0,015	ns



a



b



c

d

e

f

Figura 8. Comparación de un ratón C57BL/6 control con uno sobreviviente inyectado por vip con el veneno de *Tityus nororientalis* mostrando algunos signos de toxicidad aguda.

Estas fotos se obtuvieron después de administrar una DL_{50} del veneno de *Tityus nororientalis*. (a) Ratón testigo (sano). (b) Hipotonía e inicio de secreción ocular (nótese la distensión abdominal). (c) y (d) Secreción ocular evidente y sialorrea. (e) y (f) Postura mostrando debilidad muscular del tren posterior (en “e” nótese defecación líquida).

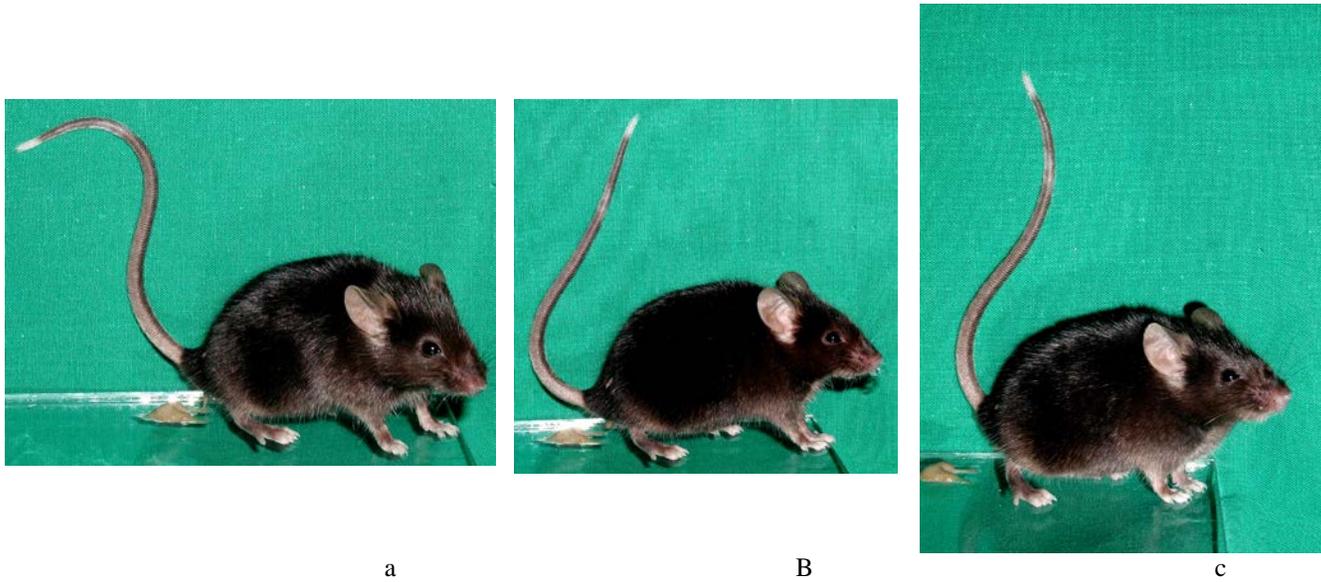


Figura 9. Ratón C57BL/6 sobreviviente inyectado por vip con el veneno de *Tityus nororientalis* mostrando la secuencia de presentación del signo de Straub.

Estas fotos se obtuvieron después de administrar una DL_{50} del veneno de *Tityus nororientalis*. Secuencia desde “a” hasta “c”. Nótese la defecación de consistencia pastosa sobre el sustrato.



a



b



c



d



d



e

Figura 10. Comparación de un ratón C57BL/6 control con uno sobreviviente inyectado por vip con el veneno de *Tityus zulianus* mostrando algunos signos de toxicidad aguda.

Estas fotos se obtuvieron después de administrar una DL_{50} del veneno de *Tityus zulianus*. (a) Ratón testigo (sano). (b), (c) y (d) Defecación pastosa y secreción ocular (nótese distensión abdominal en “c”). (d) y (e) Secreción ocular evidente y sialorrea abundante).



a



35

b

Figura 11. Ratón C57BL/6 sobreviviente inyectado por vip con el veneno de *Tityus zulianus* mostrando algunos signos de toxicidad aguda.

Estas fotos se obtuvieron después de administrar una DL_{50} del veneno de *Tityus zulianus*. (a) Inicio de periodo convulsivo. (b) periodo post-ictal (nótese la hipotonía del tren posterior). En “a” nótese sialorrea espesa; en “b” defecación pastosa.



a



b

Figura 12. Comparación de un ratón sobreviviente C57BL/6 inyectado por vip con el veneno de *tityus nororientalis* con otro inyectado con el veneno de *Tityus zulianus*, mostrando algunos signos de toxicidad aguda.

Estas fotos se obtuvieron después de administrar una DL_{50} del veneno de *Tityus nororientalis* (a) y

de *Tityus zulianus* (b). Nótese en “b” la magnitud de la distensión abdominal.



a



b

Figura 13. Comparación de un ratón sobreviviente C57BL/6 inyectado por vip con el veneno de *tityus nororientalis* con otro inyectado con el veneno de *Tityus zulianus*, mostrando algunos signos de toxicidad aguda.

Estas fotos se obtuvieron después de administrar una DL_{50} del veneno de *Tityus nororientalis* (a) y de *Tityus zulianus* (b). Nótese en “b” la magnitud de la sialorrea.

DISCUSIÓN

1. Utilidad del modelo múrido como bioensayo para la evaluación del efecto del veneno de escorpiones de importancia médica en Venezuela

El presente trabajo es el primero en establecer un modelo múrido con la finalidad de comparar la letalidad y los signos asociados al envenenamiento producido por las especies más tóxicas del género *Tityus* en Venezuela. Existe abundante información clínica obtenida a partir de humanos envenenados por escorpiones en diferentes áreas endémicas del país (López y Trejo, 1974; Porras *et al.*, 1994; De Sousa *et al.*, 1995; Mazzei de Dávila *et al.*, 1997; Reyes-Lugo y Rodríguez-Acosta, 2001; Mazzei de Dávila *et al.*, 2002; Arocha-Sandoval y Villalobos-Perozo, 2003; De Sousa *et al.*, 2007). Sin embargo, no es posible emplear tal información en un análisis comparativo riguroso, en vista que, entre otros factores, se desconoce con exactitud la especie responsable del accidente en algunos de los reportes (López y Trejo, 1974). Por otra parte, las concentraciones de veneno circulante [que otros estudios han asociado positivamente con la severidad del caso clínico (de Rezende *et al.*, 1996)] son igualmente desconocidas en la mayoría de las publicaciones, lo que imposibilita igualmente una evaluación comparativa de la magnitud y naturaleza de las manifestaciones clnicas reportadas en tales estudios. Estudios epidemiológicos recientes han permitido establecer que las especies *T. zulianus*, *T. discrepans* y *T. nororientalis*, son los taxa responsables del mayor número de envenenamientos en las zonas Andina, Centro-Norte y Nor-oriental, respectivamente (Borges y De Sousa, 2006). Un indicio de la existencia de potenciales diferencias clnicas entre estas especies lo constituye el hecho que, en el caso del envenenamiento por *T. zulianus*, predomina la sintomatología cardiorrespiratoria (Borges *et al.*, 2002; Mazzei de Dávila *et al.*, 2002), mientras que los efectos gastrointestinales son más notables en *T. discrepans* (Mota *et al.*, 1994)..

Una primera aproximación al empleo de un modelo múrido con el propósito mencionado lo constituye el trabajo de Borges, *et al.*, (2004b), quienes empleando ratones de la cepa BALB/c hallaron que el veneno de la especie andina es capaz de inducir vacuolización en los acinos pancreáticos más tempranamente que en el caso de *T. discrepans*, evaluado a la misma concentración de veneno, indicativo que el veneno de *T. zulianus* es un secretagogo más potente. Estas observaciones permiten inferir la existencia de diferencias regionales en el cuadro clínico por escorpionismo en Venezuela, lo cual tiene implicaciones desde el punto de vista del tratamiento con antivenenos neutralizantes y otras

medidas terapéuticas. En consecuencia, el presente trabajo se realizó por la necesidad de proveer una herramienta metodológica que permita evaluar de forma rigurosa las similitudes y diferencias entre cuadros clínicos por envenenamiento escorpiónico en diferentes áreas endémicas de Venezuela. Tal información se espera sea útil al momento de generar un mapa de letalidad para la escorpiofauna nacional (Borges, 1996; De Sousa *et al.*, 2000; Borges y De Sousa, 2006), producto de la superposición del mapa de incidencia, del mapa de distribución de especies y de la magnitud/cinética de aparición de los signos clínicos por región.

Independientemente de la especie de *Tityus* analizada en este trabajo, los signos observados en ratones envenenados son característicos de un cuadro de neurotoxicidad aguda, el cual ya ha sido reportado en el caso de otros escorpiones de importancia médica (De Sousa, 2002; Padilla *et al.*, 2003; De Sousa, 2006). En general, la neurotoxicidad se define como cualquier efecto adverso sobre la estructura o la función del sistema nervioso por un agente biológico, químico o físico (EPA, 1998). La siguiente tabla resume los principales signos del envenenamiento en ratones observados en este trabajo y el mecanismo que explica su generación.

Tabla 16. Signos de envenenamiento escorpiónico en ratones C57BL/6, observados en este trabajo.

<i>Signo</i>	<i>Mecanismo que explica la generación del signo</i>
Bradipnea/Apnea	Frecuencia respiratoria irregular o disminuida producto de una combinación de (1) edema agudo de pulmón, (2) contracción sostenida del diafragma, (3) broncoespasmos, como resultado de efecto colinérgico muscarínicos m_3 ; adicionalmente como efecto secretagogo m_3 sobre células bronquiales
Convulsiones tónico-clónicas	Manifestación central que consiste en convulsiones generalizadas causadas por la actividad eléctrica anormal en múltiples sitios del cerebro y/o sobre una vasta área del mismo, ocasionando rigidez corporal, seguida de temblor en las extremidades anteriores y posteriores

Continuación tabla 16

Defecación	Producida por aumento en la motilidad intestinal (efecto colinérgico) mediado por receptores m_3 ; y/o la relajación del esfínter anal también bajo el control del parasimpático (tono colinérgico). Mediado por receptores muscarínicos
Exoftalmos	Protrusión de uno o ambos globos oculares, producto del aumento en las secreciones intraorbitarias, estimuladas por vía colinérgica y adrenérgica.
Hiperactividad	Posiblemente por acción irritante del veneno en la cavidad peritoneal.
Hipoactividad	Postura posiblemente adoptada como mecanismo anti-álgido en cavidad peritoneal.
Hipotonía de tren anterior y/o posterior	Por disminución de la actividad motora.
Hiperextensión del tronco	Por contractura de los músculos dorsales paravertebrales
Marcha Atáxica	Manifestación central.
Movimientos deglutorios	Efecto combinado de hipersecreción bronquial (efecto colinérgico m_3), broncoconstricción (igualmente efecto colinérgico m_3) y dificultad

respiratoria.

Piloerección	Erección del folículo piloso por estimulación adrenérgica α_1
Parálisis espástica	Contractura de los músculos, fundamentalmente los asociados al tren posterior, ocasionando flexión de las articulaciones en una posición fija, por sobreestimulación nicotínica (colinérgica) a nivel de la placa motora
Rascado de nariz-boca	Producto del prurito local por estimulación adrenérgica
Rinorrea	Aumento en la secreción nasal por hiperestimulación colinérgica de las glándulas mucosas nasales
Secreción ocular	Aumento en la secreción de las glándulas lacrimales extra- e intraorbitarias controlada por estimulación colinérgica y adrenérgica
Signo de Straub	Dorsiflexión de la cola por efecto nicotínico a nivel de la placa motora (hiperestimulación colinérgica)
Sialorrea	Salivación profusa, producida por la estimulación colinérgica de la glándula salival

De la información allí presentada, es posible concluir que los signos son predominantemente colinérgicos (resultado de la hiperestimulación del sistema nervioso parasimpático), con algunas manifestaciones centrales (incluyendo las convulsiones tónico-clónicas) y adrenérgicas (hiperestimulación del simpático), lo cual coincide con los signos y síntomas observados en el caso de niños envenenados por escorpiones del género *Tityus* en diferentes regiones endémicas de América del Sur (Borges y De Sousa, 2006), incluyendo Venezuela (De Sousa *et al.*, 2000). Tal similitud valida el uso del modelo múrido para la evaluación del efecto de venenos de escorpión procedentes de diferentes áreas endémicas en el país.

2. Neurotoxicidad de los venenos ensayados

En el caso de las manifestaciones colinérgicas, la acetilcolina y sus receptores median la neurotransmisión en ganglios autonómicos simpáticos y parasimpáticos, en aquellos órganos efectores con terminaciones nerviosas autonómicas y, además, en algunos circuitos neuronales del cerebro, la médula espinal y en la placa neuromuscular (estos tres últimos no pertenecientes al sistema autonómico parasimpático). Los signos de la actividad hipercolinérgica son, en consecuencia, muy diversos, e incluyen efectos mediados tanto por receptores muscarínicos como nicotínicos. La hiperestimulación de receptores nicotínicos, a nivel de la placa neuromuscular, resulta en debilidad muscular (contribuyendo con la marcha atáxica), parálisis espástica, y en contracciones rápidas y localizadas denominadas fasciculaciones, las cuales en el presente trabajo se muestran como temblores generalizados en los ratones envenenados. Igualmente, la dorsiflexión de la cola o efecto de Straub es un signo nicotínico (similar al observado en la intoxicación por opiáceos), caracterizado por la contracción de los músculos dorsales sacrocoxígeos, los cuales reaccionan a la despolarización con una contracción sostenida (Zarrindast, *et al.*, 2001). Los receptores nicotínicos se hallan en ganglios simpáticos y parasimpáticos, de tal manera que la estimulación de ambas ramas del sistema nervioso autonómico también se manifiesta como hipertensión e incremento en la frecuencia cardíaca, entre otros efectos.

Los receptores muscarínicos median los efectos postganglionares parasimpáticos sobre el músculo liso presente en órganos terminales, tales como el pulmón (árbol bronquial), tracto gastrointestinal, el ojo, la vejiga y las glándulas secretoras. La hiperestimulación de estos órganos resulta en salivación aumentada (sialorrea), lacrimación (epífora), defecación, trastornos gastrointestinales, sudoración (diaforesis), vómitos y oliguria. Los primeros tres signos son notorios en el caso del envenenamiento escorpiónico experimental descrito en este trabajo. Los trastornos gastrointestinales evidenciados en este trabajo resultan de la combinación del aumento de la motilidad de la musculatura lisa y de problemas de absorción, los cuales podrían contribuir con la producción de materia fecal de apariencia pastosa. A tal proceso diarréico contribuye la relajación del esfínter anal, igualmente bajo control muscarínico. El broncoespasmo, producto de la contracción del músculo liso traqueobronquial, es también un efecto muscarínico que puede explicar, al menos en parte, los movimientos deglutorios y la respiración forzada que contribuye con la disnea de los ratones. Esta última potenciada, además, por el efecto muscarínico

secretagogo sobre las glándulas bronquiales (Zaagsma et al., 1997).

Debe enfatizarse que, en conjunto con los efectos colinérgicos, algunos de los signos observados en los ratones son resultado de la hiperestimulación adrenérgica, aunque éstos fueron observados en menor proporción (aproximadamente el 10% de los signos observados en este trabajo). Es fundamental comentar que los efectos adrenérgicos (taquicardia, incremento de la presión arterial, midriasis, entre otros) del envenenamiento experimental no pueden observarse en el modelo utilizado, por lo que sería necesaria su cuantificación experimental con la ayuda de un fisiógrafo. Por otra parte, la sensación de prurito (demostrada en un mayor rascado de nariz-boca) y la piloerección, están asociadas con la activación de receptores α_1 -adrenérgicos (Blake, 2004), ocurriendo en este último caso la activación de los músculos que producen la erección del folículo piloso. Igualmente, la secreción de las glándulas extra- e intraorbitarias en el ratón está regulada dualmente por estimulación colinérgica y adrenérgica (Ding *et al.*, 2003). El aumento en ambas secreciones, producto de la hiperestimulación simpática y parasimpática, podría contribuir con el edema retro-ocular que produce la exoftalmia observada en los ratones (Tablas 8, 9 y 10).

3. Similitudes y diferencias entre el envenenamiento experimental por diferentes especies de *Tityus* venezolanos de importancia médica: potente efecto secretagogo y cardiorrespiratorio del veneno de *T. zulianus*

Los resultados obtenidos en el presente trabajo confirman que el síndrome del envenenamiento por escorpiones del género *Tityus* en vertebrados es especie-específico, esto es, depende de la especie del arácnido responsable del accidente, al menos para las especies venezolanas (Borges *et al.*, 2004b). En un mismo modelo murino, al compararse la intensidad de los signos clínicos [evaluada a través de la proporción de ratones que muestran el signo (Tablas 8, 9, 10)], el tiempo de aparición de tales signos (Tabla 14), su curso temporal (figuras 4, 5 y 6) y el tiempo de muerte (Tabla 15)], es notable que las manifestaciones cardiorrespiratorias (respiración forzada, bradipnea/apnea) y neuromusculares (parálisis espástica/marcha atáxica) fueran más frecuentes e intensas en el caso de *T. zulianus* (ver figuras 11 y 12). De un total de 21 manifestaciones evaluadas, ocho de ellas (incluyendo las mencionadas anteriormente, además de rinorrea, secreción ocular y sialorrea abundante) resultaron significativamente más tempranas en *T. zulianus* (durante los diez primeros minutos). *T. discrepans* produjo los mismos

signos más tardíamente, mientras que *T. nororientalis* se ubica en el intermedio de estos extremos. Estas observaciones son indicios que el veneno de *T. zulianus* contiene componentes más activos sobre el sistema nervioso autonómico que los producidos por *T. discrepans* y *T. nororientalis*, incluyendo un potente efecto secretagogo (aumento generalizado de las secreciones glandulares). Alternativamente, estos resultados pueden atribuirse a la existencia de factores que coadyuvan con una mejor difusión de las toxinas de *T. zulianus* hacia su sitio de acción a nivel de las membranas de los tejidos excitables. Borges *et al.* (2006a) han reportado que la actividad de hialuronidasa, una enzima que degrada el tejido conectivo facilitando la biodisponibilidad (cinética de difusión) del veneno, no difiere significativamente entre *T. discrepans* y *T. zulianus*, dejando abierta la posibilidad que los resultados de este trabajo puedan explicarse por la existencia de toxinas más activas (con un mejor enlazamiento y/o alteración funcional de sus receptores) en el caso de *T. zulianus*.

En este sentido, Borges *et al.*, (2006a), mediante estudios moleculares y de espectrometría de masas, han demostrado que el mapa proteico de los venenos de estas dos especies es exclusivo de cada una, por lo que igualmente cabe la posibilidad que las diferencias en las manifestaciones clínicas sean producto de toxinas específicas y/o por diferencias en la abundancia de componentes tóxicos comunes. En apoyo de una mayor potencia o actividad del veneno de *T. zulianus*, cabe citar nuevamente las observaciones de Borges *et al.*, (2004b) quienes ensayando este veneno a la misma concentración que el de *T. discrepans*, notaron la aparición de efectos pancreatotóxicos (por descarga colinérgica exarcebada) más tempranamente en el caso de esta especie, lo cual resulta confirmado por el presente trabajo. Debe mencionarse, por otra parte, que las complicaciones sistémicas observadas en este trabajo en el caso de *T. zulianus*, reproducen aquellas registradas en humanos envenenados por esta misma especie y publicadas por médicos tratantes en el área endémica de escorpionismo en el estado Mérida (Mazzei de Dávila *et al.*, 2002).

En términos generales, el veneno de *T. nororientalis* resultó ser más activo que el de *T. discrepans*, hallazgo inesperado en vista de la eficacia del antiveneno anti-*T. discrepans* en la neutralización de los efectos del envenenamiento escorpiónico en la región oriental (De Sousa, resultados no publicados), indicativo de la homología en antigenicidad y en actividad de ambos venenos. Sin embargo, debe señalarse que *T. nororientalis*, la especie de más amplia distribución en el Nororiente (De Sousa *et al.*, 2006b), es un taxón polimórfico desde el punto de vista de la composición de su

veneno, de acuerdo a lo reportado por Borges *et al.* (2008), quienes hallaron diferencias apreciables en el patrón electroforético de venenos de ejemplares provenientes de Alto Llano (Anzoátegui) y Caripe (Monagas). En la siguiente tabla se demuestra, desde el punto de vista de sus títulos letales (DL_{50}), la diferencia en toxicidad entre los venenos producidos por las poblaciones de *T. nororientalis* de Anzoátegui (Alto Llano) y Monagas (Sabana de Piedra), previamente evaluados en dos tesis de grado desarrolladas en el CICS-UDO-Anzoátegui, comparados con la población de *T. nororientalis* de Sucre (Las Melenas), que se presenta en este trabajo.

Tabla 17. Comparación de las DL_{50} del veneno de ejemplares de *Tityus nororientalis* provenientes de tres localidades del nororiente de Venezuela.

<i>Tityus nororientalis</i>			
	Sucre (Las Melenas) Este Trabajo	Monagas (Sabana de Piedra) Marín y Rodríguez, 2000	Anzoátegui (Alto llano) Turkali, 2004
DL_{50} ($mg \times kg^{-1}$)	8,43	8,43	9,46
Límites de confianza	7,94 – 8,91	7,94 – 8,91	9,46 – 10,00
Kruskall – Wallis		0,00	7,35
<i>P</i>		ns	0,03

La población analizada en este trabajo, proveniente de Las Melenas, en la Península de Paria, puede distar aún más de la especie central en términos clínicos (como lo indica este trabajo) y toxicológicos con respecto a *T. discrepans*, una hipótesis que está por ser ensayada próximamente en el laboratorio.

Independiente del mecanismo que mejor explique las diferencias clínicas observadas en este trabajo, es claro que el veneno de diferentes especies venezolanas de *Tityus* produce un síndrome específico que, aunque comparable en su naturaleza neurotóxica, es de magnitud y cinética exclusivas de cada taxón. Los signos y síntomas del envenamamiento escorpiónico en humanos, y en animales de experimentación, son el resultado de la exacerbación de las funciones de ambas ramas del sistema

nervioso autonómico, como consecuencia de la descarga masiva de neurotransmisores (Martin-Eauclaire y Monod, 1995).

4. Diferencias en el título letal de los venenos de *T. zulianus*, *T. discrepans* y *T. nororientalis*

El cálculo de la DL₅₀, estimada por el método de Dixon-Mood (Tablas 4, 5 y 6; figuras 1, 2 y 3) a partir de datos obtenidos por inyección intraperitoneal, permite concluir que el veneno de *T. zulianus* es significativamente menos letal que los venenos de las especies central y oriental. Este resultado discrepa del reportado por Borges *et al.*, (2004a), quienes comparando la letalidad de los venenos de *T. zulianus* y *T. discrepans*, hallaron que la especie andina es 1,5 veces más letal en ratones BALB/c inyectados por vía intravenosa. Igualmente, llama la atención que, siendo el veneno menos letal, haya éste promovido manifestaciones tóxicas más tempranas que *T. discrepans* y *T. nororientalis*. De hecho, el período de latencia de muerte resultó en 25,5 min para *T. zulianus*, significativamente inferior a *T. discrepans* (35,5 min) y a *T. nororientalis* (37,0 min).

Estas observaciones deben ser analizadas en conjunto, a fin de interpretar la significación de los resultados y sus implicaciones. En primer lugar, el análisis de la potencia de estos venenos no puede basarse exclusivamente en su título letal, sino que debe incluir la detección de todas las manifestaciones tóxicas observadas, además de la muerte. Re-evaluaciones recientes del significado científico de la DL₅₀ han mostrado que este valor sólo caracteriza los efectos letales y, de ser tomado independientemente, contribuye poco al conocimiento de otros efectos tóxicos de la sustancia evaluada (Vit, 1989). Se han desarrollado nuevos métodos para el análisis de la toxicidad aguda, los cuales hacen énfasis en observaciones clínicas a fin de estimar los límites reales de la letalidad, tales como la determinación de la máxima dosis no letal, y, más relevante aún, la detección de manifestaciones tóxicas generales distintas a la muerte. Bass *et al.*, (1982) reportaron que la variabilidad de los valores de DL₅₀ para un mismo compuesto puede variar entre 8 y 14 veces, aún bajo condiciones estandarizadas, pero en diferentes laboratorios. De esta manera, el conocimiento de la probabilidad estadística de la muerte está sujeto a numerosas variables, no siempre bajo el control del investigador, el cual es un criterio, entre varios, para juzgar la potencia tóxica de una sustancia, incluyendo los venenos animales.

Tomados en conjunto, existen dos criterios que permiten asegurar que el veneno de *T. zulianus* es probablemente el más tóxico de los tres analizados: (1) las manifestaciones de mayor magnitud

(especialmente los secretagogos; ver figura 12), y (2) los menores tiempos de aparición de los signos clínicos. Su menor letalidad ($14,13 \text{ mg} \times \text{kg}^{-1}$) puede deberse a varios factores:

(a) En el presente caso, la letalidad se estimó a partir del método de Dixon y Mood (1948), modificado por Sevcik (1987), el cual se basa en la prueba de la máxima verosimilitud y emplea un número considerablemente menor de animales que los ensayos tradicionales de DL_{50} , tales como la prueba de los próbitos (Reed y Muench, 1938). Es claro que la variabilidad asociada a la determinación del título letal de *T. zulianus* [se emplearon cinco dosis: A, B, C, D y E (Tabla 3, figura 3)], a través de este método, fue superior a la obtenida con *T. nororientalis* [se emplearon cuatro dosis: A, B, C y D (Tabla 1, figura 1)] y *T. discrepans* [la de menor variabilidad; se utilizaron tres dosis: A, B y C (Tabla 2, Figura 2)], por lo que sería recomendable efectuar un nuevo ensayo a fin de confirmar los valores obtenidos.

(b) La cuantificación de proteínas se basó en la determinación de la absorbancia a 280 nm (A_{280}), la cual depende de la presencia de los aminoácidos aromáticos tirosina y triptófano (y de fenilalanina y de la existencia de puentes disulfuro, en menor medida). La proporción de estos aminoácidos es muy amplia entre proteínas de diferentes orígenes, por lo que el valor de A_{280} es igualmente variable: para soluciones de 1 mg/mL, el valor de absorbancia puede variar entre 0 y 4 (Kirschenbaum, 1975). En este trabajo, pesar que las toxinas de escorpión son proteínas estructuralmente homólogas y con función similar, la proporción de aminoácidos aromáticos varía entre toxinas provenientes de diferentes especies (Martin-Eauclaire y Monod, 1995). Por otra parte, es conocido que el coeficiente de extinción molar de los ácidos nucleicos en la región de 280 nm puede ser hasta alrededor de 10 veces el correspondiente a proteínas en general, por lo que sólo una pequeña proporción de ADN o ARN puede influenciar en gran medida la estimación de proteínas por A_{280} (Kirschenbaum, 1975). En vista de lo anterior, se sugiere la utilización de métodos alternativos para la determinación de proteínas, basados en el reconocimiento del enlace peptídico (por ejemplo los métodos de Biuret o Lowry), a fin de minimizar la contribución de los factores anteriormente descritos a la concentración real de proteínas en la muestra (Walker, 2002).

c) Es posible que el efecto de algunas de las toxinas de *T. zulianus* sea de cinética rápida (generando manifestaciones sistémicas de forma inmediata, en comparación con los otros dos venenos), pero de efecto reversible, lo que podría explicar la necesidad de emplear dosis más elevadas del veneno

para obtener la muerte. Sin embargo, esta posibilidad parece no ser viable en vista de la mayor letalidad del veneno de *T. zulianus*, en comparación con *T. discrepans*, al ser inyectado por otra vía periférica (la endovenosa) (Borges *et al.*, 2004a). Son necesarios más experimentos a fin de confirmar o descartar las posibilidades expuestas.

5. Implicaciones de los resultados obtenidos y trabajo futuro

El territorio venezolano ha sido delimitado, con base en criterios taxonómicos, epidemiológicos, clínicos y toxicológicos, en regiones macroendémicas de escorpionismo; en las cuales los accidentes severos y fatales se deben al envenenamiento por *Tityus* (De Sousa *et al.* 2000; Borges y De Sousa 2006). Los resultados aquí obtenidos vienen a reforzar los criterios que determinan la macroregión endémica de escorpionismo en la región Nororiental (De Sousa *et al.* 1995; 1996; 1997; 1999; 2005; 2006b; 2007), Centro-Norte-Costera (Mota *et al.*, 1994; Porras *et al.*, 1994; Reyes-Lugo y Rodríguez-Acosta, 2001) y Andina (Mazzei de Dávila *et al.*, 1997; Borges *et al.*, 2002; Mazzei de Dávila *et al.*, 2002; Mejias-R *et al.*, 2007) de Venezuela, y adicionalmente contribuye con la elaboración del mapa de letalidad de las especies de *Tityus* propuesto por Borges (1996) y, más recientemente, para una demarcación del país en “Provincias Toxicológicas” planteada por Borges y De Sousa (2006) para una comprensión integral del escorpionismo en el país.

De manera significativa, el presente trabajo incorpora elementos clínicos y de ensayos de letalidad al conjunto de evidencias moleculares, inmunológicas, bioquímicas y fisiológicas ya disponibles. A la espera de la repetición de algunas de las experiencias aquí presentadas y de la dilucidación de algunos aspectos relacionados con el contenido protéico de los venenos, los resultados obtenidos claramente indican que, empleando un mismo bioensayo, existen diferencias entre los venenos analizados, probable resultado de variaciones estructurales (es decir de, su arquitectura molecular) y/o funcionales (esto es de su enlazamiento a canales iónicos voltaje-dependientes) entre sus toxinas.

CONCLUSIONES

El presente trabajo demostró la utilidad de un modelo múdo (ratones C57BL/6) como bioensayo para comparar las manifestaciones sistémicas y la letalidad asociadas al envenenamiento por tres de las especies más tóxicas de la escorpiofauna venezolana, *Tityus nororientalis*, *Tityus discrepans* y *Tityus zulianus*.

La neurotoxicidad aguda, producto de la inyección intraperitoneal de los tres venenos ensayados, reproduce en gran parte los signos observados en humanos envenenados por las mismas especies, lo cual valida su utilidad como herramienta comparativa.

El método secuencial de Dixon y Mood (1948) resultó apropiado para la evaluación de la letalidad, en vista que ofreció ventajas tales como el ahorro de veneno, el empleo de un considerable menor número de animales (con implicaciones bioéticas), así como la reducción en el tiempo de experimentación.

En todos los casos las manifestaciones sistémicas fueron predominantemente de naturaleza colinérgica (producto de la exacerbación de las funciones del sistema nervioso parasimpático), con algunas manifestaciones centrales y adrenérgicas.

De un total de 21 manifestaciones evaluadas, ocho de ellas resultaron significativamente más tempranas en *T. zulianus*, indicativo de la potencia secretagoga y cardio/miotóxica de este veneno. *T. discrepans* produjo los mismos signos más tardíamente, mientras que *T. nororientalis* se ubica en el intermedio de estos extremos.

El veneno de *T. nororientalis* resultó significativamente más activo que el de *T. discrepans*, en términos de sus manifestaciones sistémicas, hallazgo que demanda la re-evaluación de la neutralización del veneno de la especie oriental por el antiveneno anti-*T. discrepans*, único disponible comercialmente en el país.

El tiempo de muerte (en minutos) fue significativamente inferior en el caso de *T. zulianus* en

comparación con *T. discrepans* y *T. nororientalis*, sugiriendo la mayor potencia tóxica de la especie *T. zulianus*.

Los resultados indicaron que la letalidad (en $\text{mg}\times\text{kg}^{-1}$) del veneno de *T. nororientalis* fue significativamente superior a la de *T. discrepans* y *T. zulianus*.

La aparente menor letalidad del veneno de *T. zulianus*, a pesar de haberse obtenidos signos de toxicidad aguda y tiempo de muerte más tempranos, deberá ser re-examinada futuramente, tomando en cuenta métodos alternativos para la cuantificación de proteínas.

Los datos obtenidos confirman la elevada toxicidad de los venenos producidos por escorpiones de importancia médica en Venezuela y apoya estudios previos que indican la existencia de diferencias en estructura/función en sus componentes tóxicos.

BIBLIOGRAFÍA

Arocha-Sandoval, F. y Villalobos-Perozo, R. 2003. Manifestaciones neurológicas tardías de un emponzoñamiento por escorpión. Reporte de un caso. *Kasmera*, 31: 44-49.

Barona, J.; Otero R. y Núñez V. 2004. Aspectos toxinológicos e inmunoquímicos del veneno de escorpión *Tityus pachyurus* Pocock de Colombia: capacidad neutralizante de antivenenos producidos en Latinoamérica. *Biomédica*, 24: 43-49.

- Barona, J.; Batista, C.; Zamudio, F.; Gómez-Lagunas, F.; Wanke, E.; Otero, R. y Possani, L. 2006. Proteomic analysis of the venom and characterization of toxins specific for Na⁺ and K⁺ channels from the Colombian scorpion *Tityus pachyurus*. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1764: 76-84.
- Bass, R.; Giinzel, P.; Henschler, D.; Kfnig, J.; Lorke, D.; Neubert, D.; Schfitz, E.; Schuppan, D. y Zbinden, G. 1982. LD50 Versus acute toxicity, critical assessment of the methodology currently in use. *Archives of Toxicology*, 51: 183-186.
- Becerril, B.; Corona, M.; García, C.; Bolívar, L. y Possani L., 1995. Cloning of genes encoding scorpion toxins: an interpretative review. *Journal of Toxicology and Toxins Reviews*, 14: 339-357.
- Becerril, B.; Marangoni, S. y Possani, L. 1997. Toxins and isolated from scorpions of the genus *Tityus*. *Toxicon*, 35: 821-835.
- Biondi-Queiroz, I.; García-Santana, V. y Rodrigues, D. 1996. Estudio retrospectivo do escorpionismo na Região Metropolitana de Salvador (RSM)-Bahia, Brasil. *Sitientibus*, 15: 273-285.
- Blake, B., 2004. Toxicology of the Nervous System. In: A Textbook of Modern Toxicology (E. Hodgson, Ed.), John Wiley & Sons, Inc., pp. 279-297.
- Borges, A. 1996. Escorpionismo en Venezuela. *Acta Biológica Venezuelica*, 16: 65-75.
- Borges, A. y De Sousa, L. 2006. Escorpionismo en Venezuela: una aproximación molecular, inmunológica y epidemiológica para su estudio. *Revista de la Facultad de Farmacia (Caracas)*, 69: 15-27.
- Borges, A.; Arantes, E. y Giglio J. 1990. Isolation and characterization of toxic proteins from the venom of the Venezuela Scorpion *Tityus discrepans* (Karsch). *Toxicon*, 28: 1011-1017.
- Borges; A., Tsushima, R. y Backx P. 1999. Antibodies against *Tityus discrepans* venom do not abolish of *Tityus serrulatus* venom on the rat sodium and potassium channels. *Toxicon*, 37: 868-881,
- Borges, A.; Arandia, J.; Colmenares-Árias, Z.; Vargas, A. y Alfonso, M. 2002. Caracterización epidemiológica y toxicológica del envenenamiento por *Tityus zulianus* (Scorpiones, Buthidae) en el estado Mérida, Venezuela. *Revista Facultad de Medicina (Caracas)*, 25: 76-79,
- Borges, A.; Alfonzo, M.; García, C.; Winand, N.; Leipold, E. y Heinemann, S. 2004a. Isolation, molecular cloning and functional characterization of a novel B-toxin from the Venezuelan scorpion, *Tityus zulianus*. *Toxicon*, 43: 671-684.
- Borges, A.; Trejo, E.; Vargas, A.; Céspedes, G.; Hernández, A. y Alfonzo, M., 2004b. Pancreatic toxicity in mice elicited by *Tityus zulianus* and *Tityus discrepans* scorpion venom. *Investigación Clínica*, 45: 269-276.

Borges, A.; De Sousa, L. y Manzanilla J., 2006a. Description of a New *Tityus* species (Scorpiones: Buthidae) from Sierra de Portuguesa, western Venezuela, based on morphological and Mitochondrial DNA evidence. *Zootaxa*, 1107: 49-68.

Borges, A.; García, C.; Lugo, E.; Alfonzo, M.; Jowers, M.; y Op den Camp, HJM. 2006b. Diversity of long-chain toxins in *Tityus zulianus* and *Tityus discrepans* venoms (Scorpiones: Buthidae): Molecular, immunological, and mass spectral analyses. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 142: 240-252.

Borges, A. y Rojas-Runjaic, F. 2007. *Tityus perijanensis* González-Sponga (Scorpiones: Buthidae): Molecular assessment of its geographical distribution and venom lethality of Venezuelan populations. *Toxicon*, 50: 1005-1010.

Borges, A.; De Sousa, L., Espinoza, J., Santos, R., Valadares, D. y Chávez-Olórtegui, C. 2008. Characterization of *Tityus* scorpion venoms using synaptosome binding assays and Reactivity towards Venezuelan and Brazilian antivenoms. *Toxicon*, 51, 66-79.

De Los Rios, M. 2006. Alacranes con hábitos de invasión del ambiente antrópico depositados en la Colección de Escorpiones del Centro de Investigaciones en Ciencias de La Salud. Trabajo de Pregrado, Departamento de Ciencias Fisiológicas, Universidad de Oriente, Barcelona.

De Rezende, N.; Chavéz-Olortegui, C. y Amaral, C.F., 1996. Is the severity of *Tityus serrulatus* scorpion envenoming related to plasma venom concentrations? *Toxicon* 34, 820-823.

De Sousa, L. 2002. Descripción de una nueva especie del género *Tityus* (Koch, 1836): *Tityus gonzalespongai* (Scorpiones: Buthidae) y estudio de la actividad biológica de su veneno en un modelo murino. Trabajo de Ascenso a Profesor Agregado, Departamento de Ciencias Fisiológicas, Universidad de Oriente, Barcelona.

De Sousa, L. 2006. Especie nueva de *Tityus* (Scorpiones, Buthidae) de la serranía del Turimiquire, nororiente de Venezuela. Caracterización morfológica, geográfica y toxicológica. Trabajo de Ascenso a Profesor Asociado, Departamento de Ciencias Fisiológicas, Universidad de Oriente, Barcelona.

De Sousa, L.; Kiriakos, D.; Jiménez, J.; Michelle, D.; Rodríguez, C.; Mirabal, J. y Quiroga, M. 1995. Accidente cerebrovascular isquémico por emponzoñamiento escorpiónico: observación clínica. *Saber*, 7: 7-14.

De Sousa, L.; Bónoli, S.; Quiroga, M. y Parrilla, P. 1996. Scorpion sting epidemiology in Montes, Municipality of the State of Sucre, Venezuela: geographic distribution. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 38: 147-152.

De Sousa, L.; Parrilla, P.; Tillerio, L.; Valdiviezo, A.; Ledezma, E.; Jorquera, A. y Quiroga, M. 1997. Scorpion poisoning in the Acosta and Caripe counties of Monagas State, Venezuela. Part I: characterization of some epidemiological aspects. *Cadernos de Saúde Pública/Reports in Public Health*, 13: 45-51, 1997.

De Sousa, L.; Bónoli, S.; Parrilla-Álvarez, P.; Ledezma, E.; Jorquera, A. y Quiroga, M. 1999. The proposal of a new endemic macroregion for scorpionism in Venezuela. *Journal of Venomous Animals and Toxins*, 5: 111.

De Sousa, L.; Parrilla-Álvarez, P. y Quiroga, M. 2000. An epidemiological review of scorpion stings in Venezuela. The northeastern region. *Journal of Venomous Animals and Toxins*, 6: 127-165.

De Sousa, L.; Vázquez, D.; Salazar, D.; Valecillos, R.; Vázquez, D.; Rojas, M.; Parrilla-Álvarez, P. y Quiroga, M. 2005. Mortalidad en humanos por envenenamientos causados por invertebrados y vertebrados en el estado Monagas, Venezuela. *Investigación Clínica*, 46: 241-254.

De Sousa, L.; Manzanilla, J. y Parrilla-Álvarez, P. 2006a. Nueva especie de *Tityus* (Scorpiones: Buthidae) del Turimiquire, Venezuela. *Revista de Biología Tropical/International Journal of Tropical Biology and Conservation*, 54: 489-504.

De Sousa, L.; Díaz, R.; Obregón, D.; Romero, A.; Romero, L.; Gregoriano, T.; Manzanilla, J. y Borges, A. 2006b. Notas preliminares sobre distribución y ecología de *Tityus nororientalis* (Scorpiones, Buthidae), Nororiente de Venezuela. XXI Jornadas Científicas Tecnológicas y Educativas de Guayana, pp. 67-68.

De Sousa, L.; Boadas, J.; Kiriakos, D.; Borges, A.; Boadas, J.; Marcano, J.; Turkali, I. y De Los Ríos, M. 2007. Scorpionism due to *Tityus neoespartanus* (Scorpiones, Buthidae) in Margarita Island, northeastern Venezuela. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 40: 681-685.

De Sousa, L.; Parrilla-Álvarez, P.; Pérez Di Gaeta, P.; Romero, L. y Quiroga, M. 2008. Determinación de la Dosis Letal Cincuenta del veneno de *Tityus gonzalespongai* (Scorpiones, Buthidae) por el método de Dixon y Mood. Evaluación de los signos de toxicidad aguda experimental. *Saber*, 20: Aceptado.

Ding, C.; Walcott, B. y Keyser, K. 2003. Sympathetic neural control of the mouse lacrimal gland. *Investigative Ophthalmology and Visual Sciences*, 44: 1513-1520.

Dixon, W. y Mood, A. 1948. A method for obtaining and analyzing sensitivity data. *Journal of American Statistics Association*, 43: 109-126.

Environmental Protection Agency (EPA) 1998. *Guidelines for Neurotoxicity Risk Assessment*. Risk Assessment Forum, Washington.

Gómez, J.; Velásquez, P.; Saldarriaga, M.; Díaz, A. y Otero, R. 2002a. Aspectos biológicos y ecológicos del escorpión *Tityus fuhrmanni* (Kraepelin, 1914) en las poblaciones del cerro El Volador y barrios aledaños de la ciudad de Medellín. *Actualizaciones Biológicas*, 24:103-111.

Gómez, J.; Otero, R.; Núñez, V.; Saldarriaga, M.; Díaz, A. y Velásquez, M. 2002b. Aspectos toxicológicos, clínicos, epidemiológicos del envenenamiento producido por el escorpión *Tityus fuhrmanni* Kraepelin. *Med-UNAB*, 5:159-165.

Gómez, J. y Otero, R. 2007. Ecoepidemiología de los escorpiones de importancia médica en Colombia. *Revista de la Facultad Nacional de Salud Pública*, 25: 50-60.

- González-Sponga, M. 1996. *Guía para identificar escorpiones de Venezuela*. Cuadernos Lagoven. Caracas. Pp 126.
- Harvey, A.; Bradley K.; Cochran, S.; Rowan, E.; Pratt, J.; Quillefeldt, J. y Jerusalinsky, D., 1998. What can toxins tell us for drugs discovery. *Toxicon*, 36: 1635-1640.
- Kirschenbaum, D. 1975. Molar absorptivity and A1%/1 cm values for proteins at selected wavelengths of the ultraviolet and visible regions. *Analytical Biochemistry*, 68: 465-484.
- López, R. y Trejo, M. 1974. Miocarditis tóxica por picadura de alacrán. Primer caso reportado en Venezuela. *Acta Médica Venezolana*, 21: 37-46, 1974.
- Lourenço, W. y Cuellar, O. 1995. Scorpions, scorpionism, life history strategies and parthenogenesis. Review article. *Journal of Venomous Animals and Toxins*, 1: 51-62.
- Machado-Allison, A. y Rodríguez-Acosta, A. 1997. *Animales Venenosos y Ponzosñosos de Venezuela*. Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico de la Universidad Central de Venezuela, Caracas.
- Manzanilla, J. y De Sousa, L. 2003. Ecología y distribución de *Rhopalurus laticauda* Thorell, 1876 (Scorpiones: Buthidae) en Venezuela. *Saber*, 15: 3-14.
- Marín, D. y Rodríguez, A. 2000. Toxicidad aguda y evaluación de la Dosis Letal Cincuenta (DL₅₀) en el modelo murino C57/B6 inducida por el veneno de *Tityus* sp. de Sabana de Piedra, estado Monagas. Trabajo de Pregrado, Departamento de Ciencias Fisiológicas, Universidad de Oriente, Barcelona.
- Martin-Eauclaire, M. y Couraud, F., 1995. Scorpion neurotoxins: effects and mechanisms. En: Chang, .W., Dyer, R.S. (Eds.), *Handbook of Neurotoxicology*. Marcel Dekker, New York, pp. 683-716.
- Mazzei de Dávila C.; Parra, M.; Fuenmayor, A.; Salgar, N.; González, Z. y Dávila, D. 1997. Scorpion envenomation in Mérida, Venezuela. *Toxicon*, 35: 1459-1462.
- Mazzei de Dávila, C.; Dávila, D.; Donis, J.; Arata-Bellabarba, G.; Villarreal, V. y Barboza, L. 2002. Sympathetic nervous system activation, antivenin administration and cardiovascular manifestations of scorpion envenomation. *Toxicon*. 40: 1339-1346.
- Mazzoti, L. y Bravo, M. 1987. *Scorpionism in the Mexican Republic*. Entomología Médica y Veterinaria. Noriega Editores. México.
- Mejias-R, R.; Yáñez, C.; Árias, R.; Mejias-R, R.; de Árias, Z. Y Luna, J. 2007. Ocurrencia de escorpionismo en los distritos sanitarios del estado Mérida. *Investigación Clínica*, 48: 147-153.
- Mota, J.; Ghersy de Nieto, M.; Bastardo, M.; Rodríguez, J.; Duque, L. y Freytez, L. 1994. Emponzoñamiento escorpiónico: clínica y laboratorio usando antivenina. *Boletín del Hospital de Niños (Caracas)*, 30: 35-40.

Otero, R.; Uribe, F. y Sierra, A. 1998. Envenenamiento escorpiónico en niños. *Actualizaciones Pediátricas*, 8: 88-92.

Otero, R.; Navio, E.; Céspedes, F.; Núñez, M.; Lozano, L.; Moscoso, E.; Matallana, C.; Arsuza, N.; García, J.; Fernández, D.; Rodas, J.; Rodríguez, O.; Zuleta, J.; Gómez, J.; Saldarriaga, M.; Quintana, J.; Núñez, V.; Cárdenas, S.; Barona, J.; Valderrama, R.;

Paz, N.; Díaz, A.; Rodríguez, O.; Martínez, M.; Maturana, R.; Beltrán, L.; Mesa, M.;

Paniagua, J.; Flórez, E. y Lourenço, W. 2004. Scorpion envenoming in two regions of Colombia: clinical, epidemiological and therapeutic aspects. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 98: 742-750.

Padilla, A.; Govezensky, T.; Possani, L. y Larralde, C., 2003. Experimental envenoming of mice with venom from the scorpion *Centruroides limpidus limpidus*: differences in mortality and symptoms with and without antibody therapy relating to differences in age, sex and strain of mouse. *Toxicon*, 41: 959-965.

Parrilla-Álvarez, P. 1999. Caracterización inmunológica parcial del veneno y toxoide de escorpiones venezolanos del género *Tityus*. Trabajo de *Magíster Scientiarum*, Centro de Estudios Avanzados, Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas, Caracas.

Pilles, N.; Chen, H.; Wilson, H.; Le Gall, F.; Montoya, G.; Molgo, J.; Schonherr, R.; Nicholson, G.; Heinemann, SH. y Gordon, D. 2000. Scorpion alpha and alpha-like toxins differentially interact with sodium channels in mammalian CNS and periphery. *European Journal of Neurosciences*, 12: 2823-2832.

Porrás, J.; Rosillo-González, M. y Guirado-Pastor, M. 1994. Escorpionismo por *Tityus discrepans*. Estudio retrospectivo 1983-1986. *Archivos Venezolanos de Pediatría y Puericultura*, 57: 98-105.

Possani, L.; Fletcher Jr., P.; Alagón, A.; Alagón, A. y Juliá, J. 1980. Purification and characterization of a mammalian toxin from venom of the Mexican scorpion *Centruroides limpidus tecomanus* Hoffmann. *Toxicon*, 18: 175-183.

Possani, L.; Becerril, B.; Delepierre, M. y Tytgat, J., 1999. Scorpion toxins specific for Na⁺-channels. *European Journal of Biochemistry*, 264: 287-300.

Prendini, L. y Wheeler, W. 2005. Scorpion higher phylogeny and classification, taxonomic anarchy, and standards for peer review in online publishing. *Cladistics*, 21: 446-494.

Quiroga, M.; Parrilla-Álvarez, P. y De Sousa, L. 1999. The biology of Buthidae scorpions of the genus *Tityus*, a major cause of envenoming in northeastern Venezuela. *Journal of Venomous Animals and Toxins*, 5: 104.

Quiroga, M.; De Sousa, L. y Parrilla-Álvarez, P. 2000. The description of *Tityus caripitensis*. A new Venezuelan scorpion (Scorpionida, Buthidae). *Journal of Venomous Animals and Toxins*, 6: 99-117.

- Quiroga, M.; De Sousa, L.; Parrilla-Alvarez, P. y Manzanilla, J. 2004. The first report of *Tityus* (Scorpiones: Buthidae) in Anzoátegui State, Venezuela. A new species. *Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases*, 10: 10-33.
- Reed, L. y Muench, H. 1938. A simple method of estimating percent end points. *American Journal. Hygiene*, 27: 493-497, 1938.
- Reyes-Lugo, M. y Rodríguez-Acosta, A. 2001. Scorpion envenoming by *Tityus discrepans* Pocock, 1987 in the Northern Coastal Region of Venezuela. *Revista Científica, FCV-LUZ. XI*: 412-417.
- Rojas-Runjaic, F. y De Sousa, L. 2007. Catálogo de los escorpiones de Venezuela (Arácnida: Scorpiones). *Boletín de la Sociedad Entomológica Aragonesa*, 40: 281-307.
- Saldarriaga, M. y Otero, R. 2000. Los Escorpiones: aspectos ecológicos, biológicos y toxinológicos. *Med-UNAB*, 3: 17-23.
- Sevcik, C. 1987. DL₅₀ determinations: Objections to the method of Beccari as modified by Molinengo. *Toxicon*, 25: 779-783.
- Shulov, A. y Zlotkin, E., 1969. A simple device for collecting scorpion venoms. *Toxicon*, 2: 169-170.
- Spirandeli-Cruz, E. 1999. Biología dos Escorpões. En: *Venenos: Aspectos clínicos y terapêuticos dos acidentes por Animais Peçonhentos*. Barraviera, B. (Ed.). EUPB/Editora de Publicações Biomédicas, Rio de Janeiro. Pp. 135-150.
- Tsushima, R.; Borges, A. y Backx, P. 1999. Inactivated state dependence of sodium channel modulation by B-scorpion toxin. *European Journal of Physiology (Pflügers Archives)*, 437: 661-668.
- Turkali, I. 2004. Evaluación de la actividad biológica del veneno de *Tityus nororientalis* (Scorpiones, Buthidae) de Alto Llano, municipio Sotillo, estado Anzoátegui. Trabajo de Pregrado, Departamento de Ciencias Fisiológicas, Universidad de Oriente, Barcelona.
- Vit, P. 1989. Approximate lethal dose versus median lethal dose in acute toxicity testing of pharmaceuticals. A retrospective study. *Archives of Toxicology*, 63: 343-344.
- Walker, J. 2002. *The protein protocols handbook*. Humana Press, Totowa, New Jersey.
- Zaagsma, J.; Roffel, A. y Meurs H. 1997. Muscarinic control of airway function. *Life Sciences*, 60, 1061-1068.
- Zarrindast, M.; Alaei-Nia, K. y Shafizadeh, M. 2001. On the mechanism of tolerance to morphine-induced Straub tail reaction in mice. *Pharmacological and Biochemical Behaviour*, 69: 419-424.

Hoja De Metadatos

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 1/5

Título	EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD BIOLÓGICA DEL VENENO DE TRES ESPECIES VENEZOLANAS DE IMPORTANCIA MÉDICA DEL GÉNERO <i>Tityus</i> (SCORPIONES, BUTHIDAE) (Modalidad: Investigación)
Subtítulo	

Autor(es)

Apellidos y Nombres	Código CVLAC / e-mail	
	COVA COVA, YESENIA DEL VALLE	CVLAC
e-mail		yeseniacova@gmail.com
e-mail		
	CVLAC	
	e-mail	
	e-mail	
	CVLAC	
	e-mail	
	e-mail	
	CVLAC	
	e-mail	
	e-mail	

Palabras o frases claves:

<i>Tityus</i>
Scorpiones, Buthidae
Toxicidad
DL ₅₀
Neurotoxicidad

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 2/5

Líneas y sublíneas de investigación:

Área	Subárea
Ciencias	Bioanálisis

Resumen (abstract):

El presente trabajo se realizó con el objeto de evaluar la utilidad de un modelo múrido para la comparación de los signos clínicos y el título letal de tres especies responsables del mayor número de accidentes en el país: *Tityus nororientalis* (región Nor-oriental), *Tityus discrepans* (región Centro-norte Costera) y *Tityus zulianus* (región Andina). La actividad biológica de los venenos estudiados fue ensayada luego de su inyección intraperitoneal en ratones C57BL/6 hembras de 17-24 g de peso. La letalidad fue cuantificada a través de la dosis letal media (DL₅₀), determinada según el método secuencial de Dixon y Mood. El efecto de los venenos también se evaluó a través de la determinación del tiempo de muerte y del tiempo de aparición de los signos de toxicidad. Los resultados indicaron que la letalidad (en mg⊗kg⁻¹) del veneno de *T. nororientalis* [8,43 (7,94 – 8,91)] fue significativamente superior a la de *T. discrepans* [11,22 (10,61 – 11,91); *p* = 0,0008] y *T. zulianus* [14,13 (13,36 – 14,22); *p* = 0,00003]. En todos los casos, el cuadro indicó la neurotoxicidad aguda de los venenos ensayados. Los signos del envenenamiento fueron predominantemente colinérgicos (con algunas manifestaciones adrenérgicas y centrales), reproduciendo, en su mayoría, aquellos observados en humanos envenenados. Tales signos aparecieron significativamente de manera más temprana en el caso de *T. zulianus* en comparación con las especies central y oriental, predominando en el primero las manifestaciones cardiorrespiratorias y la parálisis del tren posterior. El tiempo de muerte (en minutos) fue significativamente inferior en el caso de *T. zulianus* (25,50) en comparación con *T. discrepans* (35,50; *p* = 0,015) y *T. nororientalis* (37,00; *p* = 0,36). Los resultados obtenidos indican que la especie andina produce en el modelo múrido un cuadro de neurotoxicidad más agudo que las otras especies, lo cual coincide con las observaciones en humanos. La menor letalidad del veneno de *T. zulianus* obtenida en este trabajo puede deberse, entre otros factores, a diferencias en la proporción de amino ácidos aromáticos de las toxinas de los tres venenos, factor que podría afectar el registro de absorbancia a 280 nm, método empleado para la cuantificación de proteínas. Los datos obtenidos confirman la elevada toxicidad de los venenos producidos por escorpiones de importancia médica en Venezuela y apoyan estudios previos que indican que, paralelamente a la diversidad taxonómica, existen diferencias amplias en toxicidad entre especies del mismo género.

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 3/5

Contribuidores:

Apellidos y Nombres	ROL / Código CVLAC / e-mail	
Borges, Adolfo	ROL	CA <input type="checkbox"/> AS <input type="checkbox"/> TU <input type="checkbox"/> JU <input type="checkbox"/>
	CVLAC	5.302.194
	e-mail	Borges.adolfo@gmail.com
	e-mail	
De sousa, Leonardo	ROL	CA <input type="checkbox"/> AS <input type="checkbox"/> TU <input type="checkbox"/> JU <input type="checkbox"/>
	CVLAC	14.214.293
	e-mail	leonardodesousa@yahoo.com
	e-mail	
Bianchi, Olga	ROL	CA <input type="checkbox"/> AS <input type="checkbox"/> TU <input type="checkbox"/> JU <input type="checkbox"/>
	CVLAC	8.444.764
	e-mail	Olga_maria_bianchi@hotmail.com
	e-mail	
Cornejo, Pablo	ROL	CA <input type="checkbox"/> AS <input type="checkbox"/> TU <input type="checkbox"/> JU <input type="checkbox"/>
	CVLAC	24.129.599
	e-mail	Cepablo5@yahoo.com
	e-mail	

Fecha de discusión y aprobación:

Año	Mes	Día
2008	06	13

Lenguaje: spa

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 4/5

Archivo(s):

Nombre de archivo	Tipo MIME
Tesis_YDCC.doc	Application/Word

Alcance:

Espacial: Sucre (Opcional)

Temporal: Temporal (Opcional)

Título o Grado asociado con el trabajo:

Licenciatura en Bioanálisis

Nivel Asociado con el Trabajo: Licenciada

Área de Estudio:

Bioanálisis

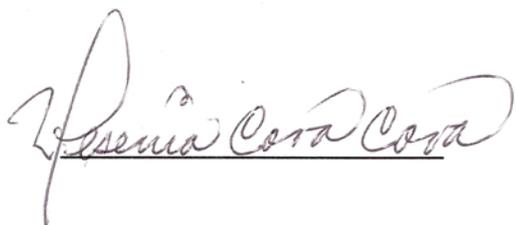
Institución(es) que garantiza(n) el Título o grado:

Universidad de Oriente (U.D.O). Núcleo de Sucre

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 5/5

Derechos:

Los autores garantizamos en forma permanente a la Universidad de Oriente el derecho de aclarar y difundir, por cualquier medio, el contenido de esta tesis. Esta difusión será con fines estrictamente científicos y educativos, pudiendo cobrar la Universidad de Oriente una suma destinada a recuperar parcialmente los costos involucrados. Los autores nos reservamos los derechos de propiedad intelectual así como todos los derechos que pudieran derivarse de patentes industriales o comerciales.

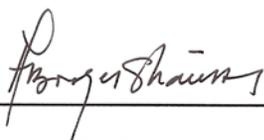


AUTOR 1

AUTOR 2

AUTOR 3

AUTOR 4



TUTOR



JURADO 1



JURADO 2

POR LA SUBCOMISIÓN DE TESIS:

