



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

EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD BIOLÓGICA DEL VENENO DE
EJEMPLARES MACHOS Y HEMBRAS DE *Tityus nororientalis* (SCORPIONES,
BUTHIDAE)
EN EL MODELO MÚRIDO C57BL/6
(Modalidad: Investigación)

ROSA INDIRA CHADEE BURGOS

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

CUMANA, ENERO 2010

EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD BIOLÓGICA DEL VENENO DE
EJEMPLARES MACHOS Y HEMBRAS DE *Tityus nororientalis* (SCORPIONES,
BUTHIDAE)
EN EL MODELO MÚRIDO C57BL/6

APROBADO POR:

Prof. Leonardo De Sousa
Asesor Académico

Prof. Olga Bianchi
Jurado Principal

Prof. Pablo Cornejo-Escobar
Jurado Principal

ÍNDICE

DEDICATORIA	i
AGRADECIMIENTOS	ii
LISTA DE TABLAS	iii
LISTA DE FIGURAS	iv
RESUMEN.....	vi
INTRODUCCIÓN	1
Taxonomía y epidemiología.....	1
Características del veneno.....	3
Manifestaciones clínicas	4
Antecedentes históricos.....	5
MATERIALES Y MÉTODOS	8
Muestra.....	8
Fuente del veneno de escorpión	8
Fuente de los animales de experimentación.....	8
Extracción y purificación parcial del veneno.....	9
Determinación de la concentración de proteínas	10
Evaluación de la DL ₅₀ y de los signos de toxicidad aguda experimental	11
Análisis estadísticos	13
RESULTADOS.....	14
DISCUSIÓN	32
Significado de <i>Tityus nororientalis</i> como especie de importancia médica en el Nororiente de Venezuela.....	32
Utilidad del modelo murino C57BL/6 para la evaluación del efecto del veneno de escorpiones de importancia médica en Venezuela.....	33
Diferencias y similitudes entre el envenenamiento experimental causado por el veneno de ejemplares hembras o machos de <i>Tityus nororientalis</i>	34
Alcances de los resultados y su contribución a la elaboración del mapa de letalidad de la escorpiofauna venezolana de importancia médica	38
CONCLUSIONES	40
BIBLIOGRAFÍA	41
HOJA DE METADATOS	50

DEDICATORIA

A DIOS, Nuestro Señor, en el cual esta mi fe.

A mi madre Nídida Burgos, mujer de carácter fuerte, sentimientos nobles y esfuerzo de vida, representa el pilar fundamental de mi existencia. Este fruto es una realidad basada en tu confianza y esmero; por tal motivo una expresión, aunque sencilla, de gran significación, “te amo”. A mi padre Hermes García, hombre luchador.

A mi hijo Sunil Otoniel por ser la razón de nuestra coexistencia.

A mis hermanos Shamela y Jairo por su presencia.

A mi abuela Belkis Dicuru por sus consejos y apoyo.

A mis tías Aleiza y Liliana, a mis primos (un pocote de ellos, en especial al que llaman Carlos José) por estar presentes en los tiempos difíciles.

A José Vidal Rengel por su esmerada hospitalidad en mis inicios de la vida universitaria.

A mis amigas, que son parte de esa legión de apoyo y fortaleza, Lourdes Pinto, Yesenia Cova, Anaelis Yeguez, Marianela Boada, Noelia Suárez, Hilda Marín, Dumidia Paris, Mairdys Siforntes y Carmen Rodríguez.

Gracias a todos por ser siempre consecuentes en su amor, y hoy de todo corazón les doy mil gracias

Rosa Indira Chadee Burgos

AGRADECIMIENTOS

A mi querido Profesor Leonardo De Sousa por permitirme compartir parte de su fabuloso y sorprendente mundo venenoso.

Al Profesor Adolfo Borges, Laboratorio de Biología Molecular de Toxinas y Receptores, Sección de Biomembranas, Instituto de Medicina Experimental, Facultad de Medicina, Universidad Central de Venezuela, por sus apreciables comentarios.

A los valiosos consejos y enseñanzas de mis amigos y profesores Alegría Guzmán, Mercedes Matos, Nereida Solano y Aleikar Vásquez-Suárez.

Al Laboratorio de Toxinología, Sección de Farmacología, Departamento de Ciencias Fisiológicas, Escuela de Ciencias de la Salud, Universidad de Oriente, Núcleo de Anzoátegui por permitirme utilizar sus instalaciones para el desarrollo de este trabajo de investigación.

Este trabajo fue parcialmente financiado por el Fondo Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación (FONACIT) a través del Proyecto de Investigación en Red Nacional de Producción de Antivenenos N° 2007000672; por intermedio del Subproyecto 1: “Caracterización epidemiológica de los envenenamientos ofídicos y escorpiónicos en Venezuela, con taxonomía de las especies asociadas y bancos de venenos” y del Subproyecto 2: “Bioensayos para el estudio de la diversidad de toxinas de la fauna venenosa del país”, de los cuales esta propuesta forma parte.

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 ejemplares hembra de <i>Tityus nororientalis</i> en ratones C57BL/6, administrado por vía intraperitoneal, para una hora de observación.....	15
Tabla 2. Datos para el cálculo de la DL_{50} del veneno de ejemplares macho de <i>Tityus nororientalis</i> en ratones C57BL/6, administrado por vía intraperitoneal, para una hora de observación.....	17
Tabla 3. Frecuencia de muerte y secuencia de dosis administradas, por vía intraperitoneal, del veneno de ejemplares hembra de <i>Tityus nororientalis</i> en el modelo múrido C57BL/6.	18
Tabla 4. Frecuencia de muerte y secuencia de dosis administradas, por vía intraperitoneal, del veneno de ejemplares macho de <i>Tityus nororientalis</i> en el modelo múrido C57BL/6.	19
Tabla 5. Frecuencia de manifestaciones clínicas inducidas por toxicidad aguda del veneno de ejemplares hembra de <i>Tityus nororientalis</i> en ratones C57BL/6.	23
Tabla 6. Frecuencia de manifestaciones clínicas inducidas por toxicidad aguda del veneno de ejemplares macho de <i>Tityus nororientalis</i> en ratones C57BL/6.....	24
Tabla 7. Comparación de las DL_{50} del veneno de ejemplares de <i>Tityus nororientalis</i> provenientes de varias localidades del nororiente de Venezuela.	37

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Extracción del veneno de un ejemplar macho de *Tityus quirogae* (Scorpiones, Buthidae) por estimulación eléctrica del telson. (a) y (b). Ejemplar macho de *Tityus quirogae* sobre la rejilla metálica del equipo de extracción de veneno. (c) y (d). Electrodo estimulador ubicado en la región intersegmental, entre el quinto segmento del metasoma y el telson. Posterior a 10 trenes de pulso, de aproximadamente de 5 segundos cada uno, se obtiene el veneno eyectado desde el acúleo en tubos capilares (Pyrex, Corning®) (fotografías tomadas en De Sousa, 2006). 11
- Figura 2.** Comparación de parámetros de producción de veneno entre hembras y machos de *Tityus nororientalis* (Scorpiones, Buthidae). 14
- Figura 3.** Determinación de la dosis letal cincuenta (DL_{50}) del veneno de ejemplares hembra de *Tityus nororientalis* por vip en ratones C57BL/6. 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 para un 95% de confianza (entre paréntesis): DL_{50} , vip, 60 minutos = 9,46 (8,91 – 9,46) $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ de ratón. IV = 5,80%. 20
- Figura 4.** Determinación de la dosis letal cincuenta (DL_{50}) del veneno de ejemplares macho de *Tityus nororientalis* por vip en ratones C57BL/6. DL_{50} , vip, 60 minutos = 13,36 (12,58 – 13,36) $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ de ratón. IV = 5,80%. 21
- Figura 5.** Comparación de las dosis letales cincuenta (DL_{50}) del veneno de ejemplares hembras y machos de *Tityus nororientalis* en ratones C57BL/6. DL_{50} , vip, 60 minutos: ♀♀ (línea inferior) = 9,46 (8,91 – 9,46) $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ de ratón. ♂♂ (línea superior) = 13,36 (12,58 – 13,36) $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ de ratón. Kruskal-Wallis = 18,95; $p = 0,00001$ 21
- Figura 6.** Comparación del curso temporal de toxicidad aguda experimental entre ratones fallecidos y sobrevivientes sometidos al veneno de ejemplares hembra de *Tityus nororientalis*. El curso temporal de color azul indica el tiempo de presentación

de los signos sin diferencias estadísticamente significativas cuando se comparan las dos poblaciones de ratones C57BL/6.....	26
Figura 7. Comparación del curso temporal de toxicidad aguda experimental entre ratones fallecidos y sobrevivientes sometidos al veneno de ejemplares macho de <i>Tityus nororientalis</i>	27
Figura 8. Comparación del curso temporal de toxicidad aguda experimental entre ratones fallecidos y sobrevivientes sometidos al veneno de ejemplares hembras y machos de <i>Tityus nororientalis</i> . La línea de color negro indica el veneno de los ejemplares hembra (VH) de <i>Tityus nororientalis</i> ; el fucsia el de los machos (VM). El símbolo (□) indica los ratones sobrevivientes (RV) y el símbolo (+) los fallecidos (RM) por efecto tóxico de los venenos.	28
Figura 9. Comparación de un ratón C57BL/6 control con uno sobreviviente inyectado, por vip, con el veneno de ejemplares hembra de <i>Tityus nororientalis</i> mostrando algunos signos de toxicidad aguda. (a) Ratón testigo (sano). (b), (c) y (d) Secreción ocular evidente. En (c y d), nótese exoftalmos bilateral (e) Hipotonía, defecación pastosa y distensión abdominal. (f) Defecación líquida (observada con baja frecuencia).....	29
Figura 10. Comparación de un ratón C57BL/6 control con uno sobreviviente inyectado, por vip, con el veneno de ejemplares hembra de <i>Tityus nororientalis</i> mostrando algunos signos de toxicidad aguda. (a) Ratón testigo (sano). (b) Piloerección (nótese la postura del animal mostrando debilidad muscular del tren posterior). (c), (d), y (e) Hipotonía. En (f) nótese defecación pastosa y distensión abdominal).	30
Figura 11. Ratón C57BL/6 sobreviviente inyectado por vip con el veneno de ejemplares hembra de <i>Tityus nororientalis</i> mostrando el signo de Straub.	31

RESUMEN

El presente trabajo se realizó con el objeto de evaluar parámetros de producción y de toxicidad diferencial intersexual del veneno de *Tityus nororientalis* González-Sponga, 1996 (Scorpiones, Buthidae), en el modelo mûrido, en términos de producción de veneno, título letal y curso temporal del envenenamiento agudo experimental causado por el veneno de ejemplares hembras y machos de esta especie de escorpión de la región Nororiental de Venezuela. La actividad biológica de los venenos fue ensayada luego de su inyección intraperitoneal en ratones hembra C57BL/6 de 15-25 g de peso. La letalidad fue cuantificada a través de la dosis letal cincuenta (DL₅₀), determinada según el método secuencial de Dixon y Mood para una hora de experimentación. El efecto clínico de los venenos se evaluó observando el curso temporal de toxicidad aguda experimental. Los resultados indicaron, en términos de producción de veneno, que cada hembra de *Tityus nororientalis*, por estimulación eléctrica, produce en promedio para peso y volumen, 0,98 mg y 2,34 µl de veneno; valores significativamente menores al de los machos (en promedio 2,39 mg y 6,25 µl). La letalidad (en mg kg⁻¹) del veneno de las hembras fue significativamente superior [9,46 (8,91-9,46)] al de los ejemplares macho [13,36 (12,58-13,36); *p* = 0,0008]. En todos los casos, el cuadro clínico indicó neurotoxicidad aguda de los venenos ensayados; con signos predominantemente colinérgicos (con algunas manifestaciones adrenérgicas y centrales), similares a aquellos observados en humanos envenenados. Aunque comparable en su naturaleza neurotóxica, el curso temporal de toxicidad entre los dos venenos es de magnitud y cinética diferencial fundamentalmente en la fase de toxicidad grave (sialorrea abundante, disnea bradipnea-apnea, exoftalmos y parálisis espástica); tales signos aparecieron de manera significativamente más temprana en el caso de los animales inyectados con el veneno de hembras de *Tityus nororientalis*. Los resultados obtenidos indicarían variaciones intersexuales del veneno en esta especie que podrían estar relacionadas con su expresión proteómica y que, adicionalmente, apuntaría a confirmar la alta complejidad de los venenos de este grupo taxonómico con expresión en diversidad toxinológica genérica dentro de la misma especie.

Palabra y/o Frases Claves:

INTRODUCCIÓN

Taxonomía y epidemiología

Los escorpiones pertenecen al Superhylum Arthropoda, Clase Arachnida, Orden Scorpiones (Gonzalez-Sponga, 1996a; Manzanilla *et al.*, 2002). Este orden, basado en análisis filogenéticos, propuestos por Prendini y Wheeler (2005), está organizado en 18 familias agrupando más de 1 500 especies. La Buthidae, con 80 géneros, posee la más amplia distribución geográfica en el mundo y contiene los taxa de mayor importancia médica (Borges, 1996; De Sousa *et al.*, 2000; Borges y De Sousa, 2006). Dentro de los bítidos existen, al menos, seis géneros de importancia clínico-epidemiológica mundial. Así, algunos pertenecientes a los géneros *Androctonus* (norte de África, zona del Mediterráneo y Medio Oriente), *Leiurus* (Medio Oriente), *Mesobuthus* (India, Pakistán), *Buthus* (Mediterráneo y sureste de Asia), *Centruroides* (México, América Central y sureste de Estados Unidos de América) y *Tityus* (parte de Centroamérica, islas del Caribe y Suramérica hasta el norte de Argentina) han producido casos graves y algunas fatalidades debidas a envenenamiento escorpiónico (Dehesa-Dávila, 1989; Lourenço y Cuellar, 1995; Lourenço *et al.*, 1996; Borges, 1996; Spirandeli-Cruz, 1999; Fet y Lowe, 2000; De Sousa *et al.*, 2000; Borges y De Sousa, 2006; Gómez y Otero, 2007); representando un problema de salud publica en algunas regiones antes mencionadas.

En Venezuela, de las 18 familias, cinco están presentes (Buthidae, Chactidae, Euscorpiidae, Hemiscorpiidae y Scorpionidae) agrupando 17 géneros y 184 especies descritas hasta el año 2006 (De Sousa *et al.*, 2006; Rojas-Runjaic y De Sousa, 2007). El género *Tityus*, comprobadamente de trascendencia médica en el país (Mota *et al.*, 1994; Porras *et al.*, 1994; De Sousa *et al.*, 1996; De Sousa *et al.*, 1997; De Sousa *et al.*, 1999; De Sousa *et al.*, 2000; Borges *et al.*, 2002; De Sousa *et al.*, 2005; Borges y

De Sousa, 2006; Mejias *et al.*, 2007; De Sousa *et al.*, 2008a; De Sousa *et al.*, 2008b) es el más diverso con 52 especies (Rojas-Runjaic y De Sousa, 2007); representando prácticamente un tercio del total de todos los *Tityus* (160) descritos desde Costa Rica hasta el norte de Argentina y algunas islas del Caribe (Borges y De Sousa, 2006).

De Sousa *et al.* (2000) plantearon la existencia de cuatro grandes áreas (macroregiones) endémicas de escorpionismo debidas al género *Tityus*: (a) la andina (estados Táchira, Mérida, Trujillo y zona sur del lago de Maracaibo); (b) centro-occidental (estados Lara y Falcón); (c) la centro-norte-costera (norte de los estados Carabobo y Aragua, estados Miranda, Vargas y Distrito Capital) y, finalmente, la macroregión nororiental, conformada por los estados Anzoátegui, Monagas y Sucre; abarcando el macizo Oriental (sistema montañoso de Paria y la serranía del Turimiquire, con sus áreas de piedemonte) (De Sousa *et al.*, 1999; De Sousa *et al.*, 2000). Recientemente, Borges y De Sousa (2006) actualizaron los criterios clínicos, epidemiológicos, toxinológicos y taxonómicos para redefinir las macroregiones de escorpionismo y agregar a las existentes, las macroregiones deltana, zuliana y la guayano-amazónica. La nororiental fue complementada con la insular; una vez conocidos los dos primeros casos de escorpionismo, que cursaron con anomalías pancreáticas y electrocardiográficas, causados por *Tityus neoespartanus* (Borges y De Sousa, 2006; De Sousa *et al.*, 2007a) especie relacionada, morfológica y genéticamente, con *Tityus nororientalis*; escorpión de mayor importancia epidemiológica en el nororiente venezolano.

En gran parte de la macroregión nororiental habita *Tityus nororientalis* González-Sponga, 1996 (González-Sponga, 1996b; Díaz *et al.*, 2005); taxón posiblemente incriminado en la mayoría de los envenenamientos ocurridos en el estado Sucre [y parte de los sucedidos en Anzoátegui (área noreste) y Monagas (centro-norte)] (De Sousa y Borges, 2009). Tiene su localidad tipo en Catuaro (municipio Ribero) y con distribución en el embalse El Clavellino (municipio

Ribero), Marigüitar (municipio Bolívar), Pericantar, San Antonio del Golfo (municipio Mejía) y hacienda La Rinconada, Cumanacoa (municipio Montes) (González-Sponga, 1996b). Resultados actuales indicarían un incremento de su distribución dentro del estado Sucre y hasta los estados Anzoátegui y Monagas (abarcando áreas donde antes no se había reportado su presencia). Más recientemente, la especie se localizó en el caserío Las Melenas (municipio Mariño), en Macuro (municipio Valdez), Península de Paria, estado Sucre y en Capure (municipio Pedernales), estado Delta Amacuro (De Sousa y Borges, 2009).

Características del veneno

La composición del veneno de estos artrópodos es compleja y variable (Borges *et al.*, 1990); un único veneno puede contener entre 100 y 200 componentes de origen polipeptídico, cada uno con propiedades farmacológicas distintas (Harvey *et al.*, 1998; Possani *et al.*, 1999; Tsushima *et al.*, 1999; Barona *et al.*, 2004; Borges *et al.*, 2004a; Borges *et al.*, 2004b; Barona *et al.*, 2006; Borges *et al.*, 2006a; Borges *et al.*, 2006b; Borges y De Sousa, 2006; Leipold *et al.*, 2006; Borges y Rojas-Runjaic, 2007; Borges *et al.*, 2008). Dichos componentes tóxicos, presentes en los venenos de algunos bítidos, son proteínas de baja masa molecular, entre 6 000 y 9 000, esenciales en el efecto tóxico, y causantes de las alteraciones fisiológicas observadas tanto en el modelo experimental como en el humano. Sus componentes más letales son las α - y β -toxinas, cuyos blancos moleculares son los canales de Na^+ voltaje-dependiente en las membranas excitables, modificando los mecanismos de permeabilidad iónica fundamentales para la homeostasis celular de varios órganos y sistemas (Becerril *et al.*, 1995; Becerril *et al.*, 1997; Borges *et al.*, 1999; Tsushima *et al.*, 1999; Barona *et al.*, 2006; Borges *et al.*, 2006a; Borges y De Sousa, 2006; Leipold *et al.*, 2006; Borges *et al.*, 2008). Sus efectos farmacológicos posteriores se deben, al menos en parte, a la descarga de catecolaminas y acetilcolina como

resultado de la despolarización de terminales pre- y post-ganglionares del sistema nervioso autónomo, produciendo los signos y síntomas clásicos observados en el escorpionismo (humano, veterinario y experimental) (Biondi-Queiroz *et al.*, 1996; Saldarriaga y Otero, 2000; Mazzei de Dávila *et al.*, 2002; Borges *et al.*, 2004a; Borges y De Sousa, 2006; De Sousa *et al.*, 2007a).

Manifestaciones clínicas

El envenenamiento escorpiónico es un complejo sindromático principalmente asociado a disfunción en los sistemas cardiorrespiratorio, nervioso y de autacoides y neuroendocrino (De Sousa *et al.*, 1995; Sofer *et al.*, 1996; Mazzei *et al.*, 1997; Otero *et al.*, 1998; Voronov *et al.*, 1999; Mazzei de Dávila *et al.*, 2002; Otero *et al.*, 2004; Borges y De Sousa, 2006; De Sousa *et al.*, 2007a). El envenenamiento humano por algunas especies de *Tityus* representa una emergencia pediátrica en Brasil (Lourenço y Cuellar, 1995; Biondi-Queiroz *et al.*, 1996; Lourenço *et al.*, 1996), Colombia (Otero *et al.*, 1998; Saldarriaga y Otero, 2000; Gómez *et al.*, 2002; Otero *et al.*, 2004) y Venezuela (Borges, 1996; De Sousa *et al.*, 2000; Borges y De Sousa, 2006; De Sousa *et al.*, 2007a; De Sousa y Borges, 2009). Las manifestaciones clínicas tóxicas del escorpionismo dependen de la especie y tamaño del animal, de la cantidad de veneno inyectado, del peso corporal del individuo afectado y de su susceptibilidad, siendo más grave la toxicidad en los niños, en especial en los menores de seis años, y en los ancianos; de tal manera que la severidad puede clasificarse en leve, moderada y grave (Borges, 1996).

Las manifestaciones clínicas pueden agruparse en aquellas de tipo colinérgico (vómitos, dolor abdominal, sialorrea, náuseas, diaforesis, bradicardia sinusal, hipotensión arterial, bradipnea, broncoespasmo, diarrea, miosis, calambres, fasciculaciones musculares) y las de tipo adrenérgico (palidez cutánea, frialdad de extremidades, piloerección, taquicardia sinusal, hipertensión arterial, taquipnea,

priapismo, midriasis). Debe destacarse que, en los pacientes envenenados, puede predominar la clínica colinérgica o la adrenérgica o presentarse una combinación de ambas. Las complicaciones más importantes son: alteraciones cardíacas, pancreatitis y edema agudo de pulmón. En los pacientes graves, es posible observar agitación psicomotriz, convulsiones, cambios electrocardiográficos, insuficiencia cardíaca, insuficiencia respiratoria o edema pulmonar agudo y shock, así como coagulación intravascular diseminada y anemia hemolítica (Illanes, 1981; Biondi-Queiroz *et al.*, 1996; Sofer *et al.*, 1996; Voronov *et al.*, 1999; Otero *et al.*, 1998; Otero *et al.*, 2004; Borges y De Sousa, 2006; De Sousa *et al.*, 2007a; Gómez y Otero, 2007).

Antecedentes históricos

La Dosis Letal Cincuenta (DL₅₀) es la cantidad requerida de una droga o toxina que es capaz de producir la muerte en el cincuenta por ciento de una población de animales experimentales (Ross, 1996); su determinación es esencial para la estandarización de los venenos y antivenenos de origen natural (Sevcik, 1987).

En el Laboratorio de Toxinología, Sección de Farmacología del Departamento de Ciencias Fisiológicas, Escuela de Ciencias de la Salud, Universidad de Oriente, Núcleo de Anzoátegui, desde el año 2000, se construye el mapa toxinológico de la región nororiental y se optimiza un método para determinar la actividad biológica del veneno de varias especies de escorpiones orientales, entre ellas: *Tityus nororientalis*, *Tityus gonzalespongai*, *Tityus quirogae*, *Tityus uquirensis*, *Tityus tenuicauda* y *Rhopalurus laticauda*; para lo cual se ha utilizado el ratón negro homocigoto C57BL/6, el albino homocigoto BALBc y el albino no homocigoto NMRI (Marcano y Mundaray, 2000; Marín y Rodríguez, 2000; Boadas y Marcano, 2004; Turkali, 2004; De Sousa, 2006; Cornejo, 2008; Cova, 2008; Sánquiz y González, 2008; Da Cámara *et al.*, 2008; Hurtado *et al.*, 2008; Albornoz *et al.*, 2009; De Sousa *et al.*, 2009). Recientemente, Albornoz *et al.* (2009) incorporaron los estudios histopatológicos a los ensayos de letalidad y curso temporal de toxicidad aguda,

correlacionando, en lo posible, las potenciales alteraciones de la arquitectura histológica con las manifestaciones cardiovasculares que, en apariencia, se desarrollan en los humanos.

El veneno de los escorpiones, incluyendo el de otros arácnidos como *Latrodectus* (Araneae: Theridiidae), produce morbi-mortalidad que amerita interés médico y de investigación en nuestro país (Borges, 1996; De Sousa *et al.*, 2000; Borges *et al.*, 2002; De Sousa *et al.*, 2005; Borges y De Sousa, 2006; De Sousa *et al.*, 2007b; Kiriakos *et al.*, 2008). En Venezuela, la escorpiofauna cuenta con una amplia distribución geográfica (González-Sponga, 1996a; Manzanilla y De Sousa, 2003; De Los Rios, 2006; Rojas-Runjaic y De Sousa, 2007; De Sousa y Borges, 2009), coincidiendo las áreas de riesgo potencial para los envenenamientos escorpiónicos con los de dispersión del género *Tityus* (Borges, 1996; De Sousa *et al.*, 2000; Borges y De Sousa, 2006). En tal sentido, la población venezolana que se encuentra ubicada en las regiones de los sistemas montañosos del país y sus zonas de piedemonte, fundamentalmente localizadas en la franja norte-costera, constituyen las áreas endémicas para el accidente causado por varias especies como *Tityus zulianus* (Sierra de Perijá, región occidental del estado Zulia), *Tityus discrepans* (región centro norte costera) y *Tityus nororientalis* (región nororiental) (Borges, 1996; De Sousa *et al.*, 2000; Borges y De Sousa, 2006). En este sentido, evaluar la toxicidad del veneno de *Tityus nororientalis* (Scorpiones, Buthidae) ayudaría 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 Toxinológicas” planteada por Borges y De Sousa (2006; 2009).

Con este proyecto, se exploró la posibilidad de hallar toxicidad diferencial entre el veneno de ejemplares machos y hembras de *Tityus nororientalis* provenientes de una misma localidad de su ámbito de distribución geográfica. Para tal fin, se determinó en ratones hembra de la cepa C57BL/6, por vía intraperitoneal y para 60

minutos de experimentación, las DL_{50} del veneno de ambos sexos de este taxón por el método secuencial de Dixon y Mood (1948), modificado (Sevcik, 1987), y se comparó entre ambos venenos las manifestaciones clínicas y el curso temporal de aparición de los signos inducidos como efecto del envenenamiento agudo experimental en esta cepa de ratón.

MATERIALES Y MÉTODOS

Muestra

Fuente del veneno de escorpión

Para la ejecución de la presente investigación se capturó la especie *Tityus nororientalis* González-Sponga, 1996 en su localidad tipo, ubicada en Catuaro (10°23'59,1''N, 63°30'00,6''O; 455 m de altitud; GPS Garmin®) municipio Ribero, estado Sucre. Durante el día 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 cafeto (*Coffea arabica*). Durante la noche se utilizaron lámparas portátiles de luz ultravioleta. Posteriormente, fueron trasladados al Laboratorio de Toxinología, Sección de Farmacología, Departamento de Ciencias Fisiológicas, Escuela de Ciencias de la Salud, Núcleo de Anzoátegui, Universidad de Oriente, donde se mantuvieron vivos para la extracción de su veneno.

Fuente de los animales de experimentación

Se utilizaron 30 ratones hembra, cepa C57BL/6 (De Sousa *et al.*, 2009), adquiridas en el Bioterio del Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas (IVIC) y disponibles en el área del Laboratorio de Toxinología. Los animales se mantuvieron con ciclos de iluminación natural, a temperatura ambiente y alimentación e hidratación *ad libitum*.

Los lineamientos de investigación en Toxinología, utilizando animales de experimentación, según el Código Ético de la *International Society on Toxinology (IST)*, refrendado por sus miembros en ocasión del 6th *European Symposium on*

Animal, Plant and Microbial Toxins (Basle, Suiza, Agosto de 1984) estableció: (a) Disminuir al mínimo el período de sufrimiento de los animales de experimentación y no someterlos a procedimientos dolorosos extremos. (b) Utilizar el menor número posible. (c) Sólo se requerirán para investigar los mecanismos de acción de las toxinas de origen natural. (d) El uso de la DL₅₀ sólo procederá, con fines científicos, para la estandarización de los venenos y de los antivenenos de origen natural. (e) Para establecer este índice letal se debe utilizar alrededor de 12 animales, acompañando los resultados del tiempo de supervivencia y los exámenes patológicos de los ejemplares sometidos a este procedimiento. En tal sentido, el método de Dixon y Mood (1948) es uno de los más apropiados. Por lo anterior, en esta investigación se siguieron los lineamientos éticos relacionados con experimentación animal según De Sousa *et al.* (2009).

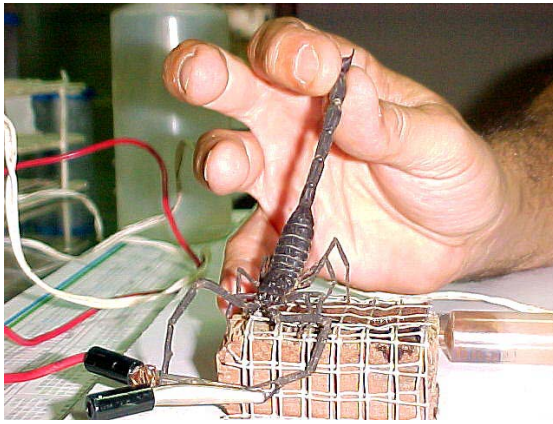
Extracción y purificación parcial del veneno

Los escorpiones fueron ordeñados por estimulación eléctrica (Figura 1), a razón de 5 pulsos rectangulares de 60 V/pulso durante 100 milisegundos, generados con un neuroestimulador Phipps-Bird[®], modelo 611 con cinco trenes de pulsos; cada uno con un lapso de cinco a seis segundos de duración, según técnica desarrollada en el Laboratorio de Alacranología, Escuela de Ciencias de la Salud, Universidad de Oriente, Núcleo de Bolívar (Quiroga *et al.*, 1982; Parrilla-Álvarez, 1999). El veneno eyectado de ejemplares hembras y machos, fue recogido de forma separada en tubos capilares de 100 µl de capacidad y luego transferido a tubos Eppendorf de 1,5 ml. El veneno fue suspendido en 1 ml de agua bidestilada y agitado en vortex (Super-Mixer[®]). Consecutivamente, se centrifugó a 14 000 g (Labnet para tubos Eppendorf[®], modelo Z180M) por 20 minutos para separar restos celulares de la fase soluble que contiene las proteínas con actividad farmacológica. Cuando fue necesario, se realizaron diluciones del veneno 1/5, 1/10 o 1/20, en agua bidestilada, como paso

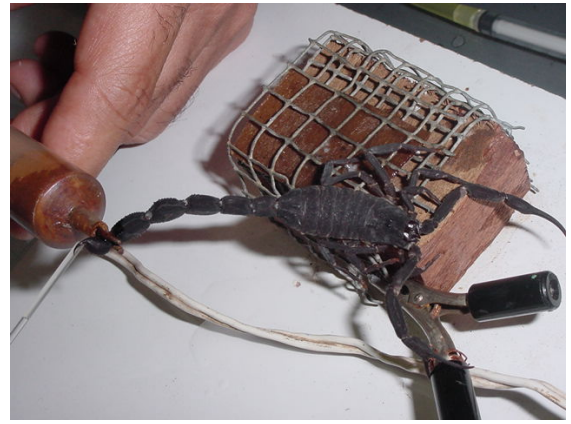
previo a la cuantificación de las proteínas contenidas en el veneno (De Sousa, 2006; De Sousa *et al.*, 2009).

Determinación de la concentración de proteínas

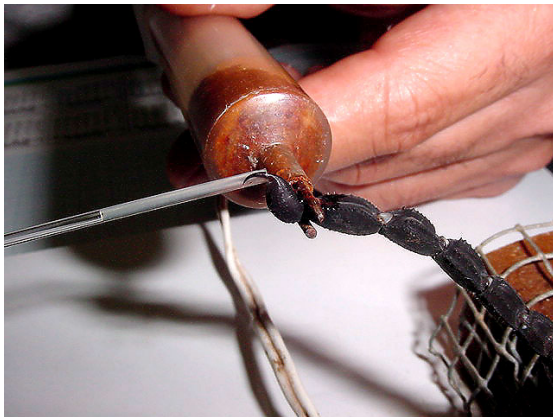
Se determinó la concentración de proteínas en la fracción soluble, obtenida en el proceso de centrifugación, mediante lectura de absorbancia en un espectrofotómetro Jenway[®], modelo 6405 UV/vis, a una longitud de onda de 280 nm, asumiendo que 1 unidad de absorbancia (a esta longitud) representó una concentración de 1 mg ml⁻¹ (Possani *et al.*, 1977; Parrilla-Álvarez, 1999) (ésta concentración fue verificada con una curva de calibración). Alícuotas de 1 ml del veneno, de ejemplares hembras y machos, se almacenó a -20°C hasta el momento de su uso para evaluar su actividad biológica en el modelo murino C57BL/6, el resto fue liofilizado (liofilizador Labconco[®]) y almacenado a -20°C (De Sousa, 2006; De Sousa *et al.*, 2009).



a



b



c



d

Figura 1. Extracción del veneno de un ejemplar macho de *Tityus quirogae* (Scorpiones, Buthidae) por estimulación eléctrica del telson. (a) y (b). Ejemplar macho de *Tityus quirogae* sobre la rejilla metálica del equipo de extracción de veneno. (c) y (d). Electrodo estimulador ubicado en la región intersegmental, entre el quinto segmento del metasoma y el telson. Posterior a 10 trenes de pulso, de aproximadamente de 5 segundos cada uno, se obtiene el veneno eyectado desde el acúleo en tubos capilares (Pyrex, Corning®) (fotografías tomadas en De Sousa, 2006).

Evaluación de la DL₅₀ y de los signos de toxicidad aguda experimental

Las DL₅₀ del veneno, de hembras y machos, de *Tityus nororientalis*, para una

hora de experimentación, se determinó por el método secuencial de Dixon y Mood (1948), modificado por Sevcik (1987).

El veneno fue inyectado, por vía intraperitoneal (vip), con una microjeringa Hamilton[®] de 50 µl de capacidad, en ratones hembra C57BL/6. Las dosis administradas se calcularon según el peso (balanza digital, Denver Instrument[®], modelo XS-3009 precisión 0,01 g) de cada animal experimental. Para la administración de cada veneno se estableció el siguiente esquema de trabajo: en el primer ratón C57BL/6, por vip, se utilizó una dosis inicial de: $Anti\text{-log } X_1 = 1$ (10 µg.g⁻¹ de ratón). Si este primer animal respondió con la muerte, el segundo ratón recibiría una dosis X_2 calculada como $Anti\text{-log}(X_1) - d$, donde d es un factor constante establecido por experiencia previa ($d = 0,05$); en cambio, si el primer animal se mantuvo vivo, entonces, el segundo recibiría una dosis X_2 calculada como $Anti\text{-log}(X_1) + d$. El procedimiento continuó y la dosis del siguiente animal fue: $X_n = Anti\text{-log}(X_{n-1}) - d$ o $X_n = Anti\text{-log}(X_{n-1}) + d$ si el animal no murió o se mantuvo vivo durante los 60 minutos de duración del experimento. La corrida válida se consideró completa al obtener cuatro ciclos muerte-no muerte o no muerte-muerte [$\dagger 0 \dagger 0 \dagger 0 \dagger 0 \dagger \otimes$, ó $0 \dagger 0 \dagger 0 \dagger 0 \dagger \otimes$; donde \dagger indica muerte, 0 supervivencia y \otimes 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 incluyó además el valor de la dosis que recibiría el siguiente animal [punto final: \otimes] (De Sousa, 2006; De Sousa *et al.*, 2009).

Los signos clínicos expresados como efecto de toxicidad aguda experimental inducida por la inyección intraperitoneal del veneno de *Tityus nororientalis*, fueron observados meticulosamente durante los 60 minutos de experimentación y tabulados cronológicamente. Los ratones que sobrevivieron, al finalizar el tiempo establecido de observación, fueron sacrificados con vapores de cloroformo. Se utilizó un animal

control al cual se administró solución fisiológica en volumen similar al del grupo experimental (De Sousa, 2006; De Sousa *et al.*, 2009).

Análisis estadísticos

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 calculó 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 las DL₅₀ y para 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 $p < 0,05$.

Para comparar los parámetros de producción de veneno y las frecuencias de algunos signos de toxicidad, se calcularon diferencias de proporciones con muestreo independiente (valor de Z; método paramétrico) con un nivel de significación $p < 0,05$. Programa PRIMER que acompaña el libro Primer of Biostatistics, quinta edición, Mc Graw-Hill (Glantz, 2002).

Se evaluó el Índice de Variabilidad de las DL₅₀ mediante la siguiente fórmula:
Índice de Variabilidad = (Límite superior – Límite inferior)/Mediana de la DL₅₀ × 100.

RESULTADOS

Se realizaron dos salidas de campo para capturar la especie *Tityus nororientalis* (Scorpiones, Buthidae) en una plantación de cafeto ubicada en las inmediaciones de la población de Catuaro (parroquia Catuaro, municipio Ribero, estado Sucre); la primera jornada se realizó entre el 07 y 08 de marzo y la segunda entre el 04 y 05 de abril de 2008. Entre ambas, se capturó un total de 21 ejemplares (14 hembras y 7 machos). Después de un período de aclimatación de quince días a las condiciones del laboratorio, se procedió al ordeño eléctrico de su veneno.

Las 14 hembras, por estimulación eléctrica, produjeron 13,77 mg de veneno. Cada ejemplar, en promedio para peso y volumen, originó 0,98 mg en 2,34 μ l. Los siete machos, produjeron 16,73 mg; en promedio, 2,39 mg en 6,25 μ l. Al respecto, las hembras producen menor cantidad de proteínas y volumen que los machos ($Z=2,42$; $p<0,001$) (Figura 2).

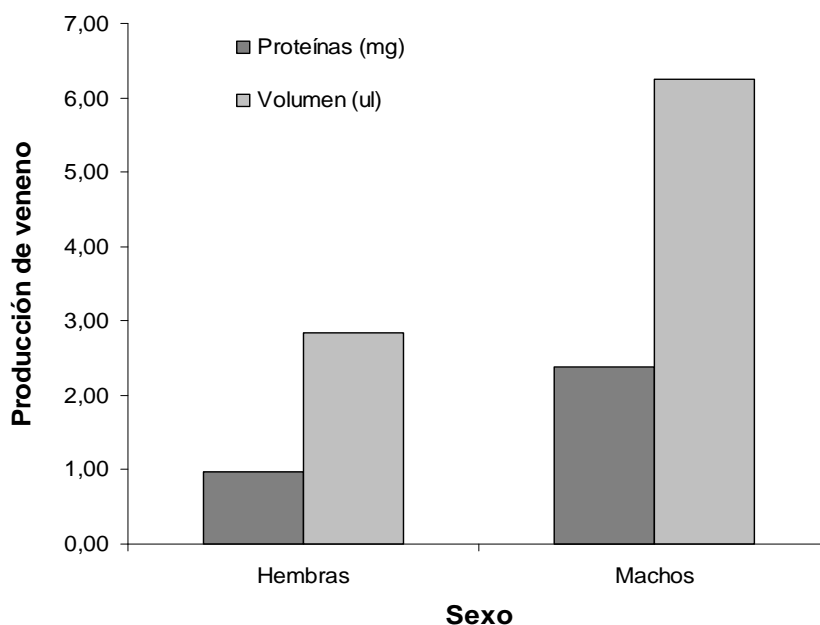


Figura 2. Comparación de parámetros de producción de veneno entre hembras y machos de *Tityus nororientalis* (Scorpiones, Buthidae).

En la tablas 1 y 2 se presentan los datos necesarios para el cálculo de las DL_{50} del veneno de hembras y machos de *Tityus nororientalis*, en ratones hembra, C57BL/6, observados durante 60 minutos.

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

RATÓN (n)	PESO (g)	DOSIS (Anti-Log)	DOSIS ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	DOSIS TOTAL (μg)	VOLUMEN (μl)	MUERTE (minutos)	
CORRIDA NO VÁLIDA							
1	21,71	A:	1,00	10,00	217,10	10,31	†: 50
				Sub-total	217,10		
CORRIDA VÁLIDA							
2	19,86	B:	0,95	8,91	177,00	8,40	0
3	19,12	A:	1,00	10,00	191,20	9,08	†: 44
4	17,35	B:	0,95	8,91	154,63	7,34	0
5	18,07	A:	1,00	10,00	180,70	8,58	†: 30
6	17,44	B:	0,95	8,91	159,85	7,59	0
7	17,12	A:	1,00	10,00	171,20	8,13	†: 44
8	15,89	B:	0,95	8,91	141,62	6,72	†: 50
9	21,45	C:	0,90	7,94	170,31	8,08	0
10	22,85	B:	0,95	8,91	203,59	9,66	0
11	20,19	A:	1,00	10,00	201,90	9,58	†: 36
12	21,83	B:	0,95	8,91	194,56	9,23	0
				Sub-total	1.946,56		
				Total	2.163,66		
SIGUIENTE ANIMAL							
13		A:	1,00	10,00			⊗

Ratones válidos: $R_2 \rightarrow R_{12} + R_{13}$ †: Ratón con *exitus letales* ⊗: Punto final

El total de ratones C57BL/6 para evaluar el veneno de hembras de *Tityus nororientalis* fue $n = 13$ [corrida + siguiente animal (punto final)] (tabla 1) y para el de machos $n = 15$ [corrida + siguiente animal (punto final)] (tabla 2). El punto de inflexión (fenómeno muerte no-muerte o no-muerte muerte) se ubicó en R_2 para el veneno de las hembras (tabla 1) y en R_4 para el veneno de los machos (tabla 2).

La corrida válida para calcular la DL_{50} , del veneno de las hembras de *Tityus nororientalis*, fue desde R_2 hasta $R_{12} + R_{13}$ (punto final) [$n = 12$]; y, para evaluar los signos de toxicidad aguda experimental desde R_2 hasta R_{12} [$n = 11$] (tabla 1). Para la DL_{50} de los machos, la corrida válida fue desde R_4 hasta $R_{14} + R_{15}$ (punto final) [$n = 12$]; y para los signos de toxicidad aguda desde R_4 hasta R_{14} [$n = 11$]. La cantidad de veneno de escorpiones hembra, utilizada en la experiencia, fue de $2\ 163,66\ \mu\text{g}$ (2,16 mg) (tabla 1) y de los machos $3\ 591,54\ \mu\text{g}$ (3,60 mg) (tabla 2). Para cada veneno se utilizó un ratón control, el cual no desarrolló ninguna manifestación clínica de toxicidad posterior a la inyección de $20\ \mu\text{l}$ de solución salina al 0,90% (m/v).

La frecuencia de muerte causada por la administración del veneno, en la corrida válida, de machos y hembras de *Tityus nororientalis* se presenta en las tablas 3 y 4. Para el de las hembras (tabla 3), la mayor regularidad de muerte ($n = 4$; 80,00%) ocurrió con la dosis A ($10,00\ \mu\text{g g}^{-1}$). Con la B ($8,91\ \mu\text{g.g}^{-1}$) la frecuencia fue baja ($n = 1$; 20,00%) y con la C ($7,94\ \mu\text{g g}^{-1}$) no ocurrió mortalidad. Con el veneno de los machos, la mayor mortalidad ($n = 5$; 83,30%) ocurrió con la dosis D ($14,13\ \mu\text{g g}^{-1}$) seguida de la C ($12,58\ \mu\text{g g}^{-1}$) ($n = 1$, 23; 16,70%). Cuando se administró la B ($11,22\ \mu\text{g g}^{-1}$) no ocurrió *exitus letalis*.

Las DL_{50} , para 60 minutos de observación, del veneno de hembras y machos de *Tityus nororientalis*, administrado por vía intraperitoneal, en ratones C57BL/6, se presentan en las figuras 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). Para el veneno de las hembras, la DL_{50} fue 9,46 (8,91 – 9,46) $\mu\text{g g}^{-1}$ de ratón y para los machos de 13,36 (12,58 – 13,36) $\mu\text{g g}^{-1}$ de ratón; en ambas el índice de variabilidad fue de 5,80%.

Tabla 2. Datos para el cálculo de la DL_{50} del veneno de ejemplares macho de *Tityus nororientalis* en ratones C57BL/6, administrado por vía intraperitoneal, para una hora de observación.

RATÓN (n)	PESO (g)	DOSIS (Anti-Log)	DOSIS ($\mu\text{g g}^{-1}$)	DOSIS TOTAL (μg)	VOLUMEN (μl)	MUERTE (minutos)
CORRIDA NO VÁLIDA						
1	16,91	A: 1,00	10,00	169,10	8,09	0
2	20,62	B: 1,05	11,22	231,36	11,06	0
3	18,60	C: 1,10	12,58	233,99	11,20	0
			Sub-total	634,45		
CORRIDA VÁLIDA						
4	22,35	D: 1,15	14,13	315,81	15,10	†: 57
5	19,85	C: 1,10	12,58	247,71	11,90	0
6	19,55	D: 1,15	14,13	276,24	13,20	†: 56
7	19,55	C: 1,10	12,58	245,93	11,76	0
8	20,27	D: 1,15	14,13	286,42	13,70	†: 43
9	21,60	C: 1,10	12,58	271,73	13,00	0
10	18,05	D: 1,15	14,13	255,05	12,20	†: 40
11	20,89	C: 1,10	12,38	262,80	12,57	†: 47
12	20,86	B: 1,05	11,22	234,05	11,20	0
13	19,53	C: 1,10	12,38	245,69	11,76	0
14	22,34	D: 1,15	14,13	315,66	15,10	†: 32
			Sub-total	2.957,09		
			Total	3.591,54		
SIGUIENTE ANIMAL						
15		C: 1,10	12,58			⊗

Ratones válidos: $R_4 \rightarrow R_{14} + R_{15}$ †: Ratón con *exitus letales* ⊗: Punto final

En la figura 5 se comparan las DL_{50} calculadas para los venenos de hembras y machos de *Tityus nororientalis* capturados en Catuaro, municipio Ribero, estado Sucre. Los resultados demostraron que las hembras de esta especie poseen un veneno significativamente más potente ($p = 0,00001$) que el de los machos.

Tabla 3. Frecuencia de muerte y secuencia de dosis administradas, por vía intraperitoneal, del veneno de ejemplares hembra de *Tityus nororientalis* en el modelo múrido C57BL/6.

RATON	Anti-log Dosis ($\mu\text{g/g}$ de ratón)		
	1,00 (10,00 $\mu\text{g g}^{-1}$) DOSIS A	0,95 (8,91 $\mu\text{g g}^{-1}$) DOSIS B	0,90 (7,94 $\mu\text{g g}^{-1}$) DOSIS C
CORRIDA NO VÁLIDA			
1	†: 50		
CORRIDA VÁLIDA			
2		0	
3	†: 44		
4		0	
5	†: 30		
6		0	
7	†: 44		
8		†: 50	
9			0
10		0	
11	†: 36		
12		0	
SIGUIENTE ANIMAL			
13	⊗		
FRECUENCIA DE MUERTE [†] CORRIDA VÁLIDA	4 (80,0%)	1 (20,0%)	0 (0,0%)

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

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

RATON	Anti-log Dosis ($\mu\text{g g}^{-1}$ de ratón)			
	1,00 (10,00 $\mu\text{g g}^{-1}$) DOSIS A	1,05 (11,22 $\mu\text{g g}^{-1}$) DOSIS B	1,10 (12,58 $\mu\text{g g}^{-1}$) DOSIS C	1,15 (14,13 $\mu\text{g g}^{-1}$) DOSIS D
CORRIDA NO VÁLIDA				
1	0			
2		0		
3			0	
CORRIDA VÁLIDA				
4				†: 57
5			0	
6				†: 56
7			0	
8				†: 43
9			0	
10				†: 40
11			†: 47	
12		0		
13			0	
14				†: 32
SIGUIENTE ANIMAL				
15			⊗	
FRECUENCIA DE MUERTE [†] CORRIDA VÁLIDA n = 6 (100%)				
		0 (0,0%)	1 (16,7 %)	5 (83,3 %)

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

En las tablas 5 y 6 se presentan las frecuencias de los signos clínicos inducidos por efecto de toxicidad aguda experimental del veneno, de ejemplares hembras y machos, de *Tityus nororientalis* en ratones C57BL/6. Con el veneno de las hembras

(tabla 5), se observaron 27 signos clínicos de toxicidad. En el 100% de los ratones correspondientes a la corrida válida, hiperactividad inicial, movimientos deglutorios, limpieza de nariz/boca, signo de Straub, taquipnea y sialorrea leve. En 90,90% piloerección y marcha atáxica; luego sialorrea abundante (81,80%), convulsiones, disnea (respiración abdominal forzada que evolucionó a bradipnea/apnea), secreción ocular, defecación pastosa, contractura de la piel de la región dorsal y distensión abdominal (72,70%).

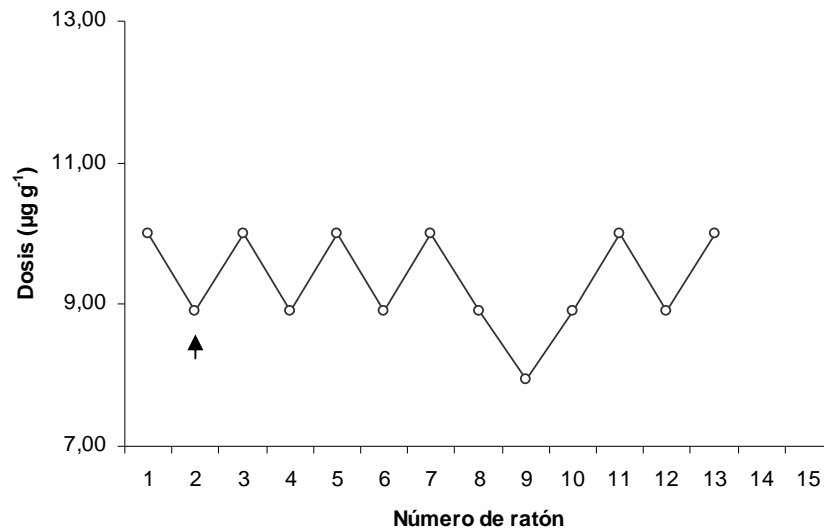


Figura 3. Determinación de la dosis letal cincuenta (DL_{50}) del veneno de ejemplares hembra de *Tityus nororientalis* por vip en ratones C57BL/6. La flecha indica el punto de inflexión e inicio de los datos válidos para el cálculo de la DL_{50} . El resultado se presenta como la mediana y sus límites para un 95% de confianza (entre paréntesis): DL_{50} , vip, 60 minutos = 9,46 (8,91 – 9,46) $\mu\text{g g}^{-1}$ de ratón. IV = 5,80%.

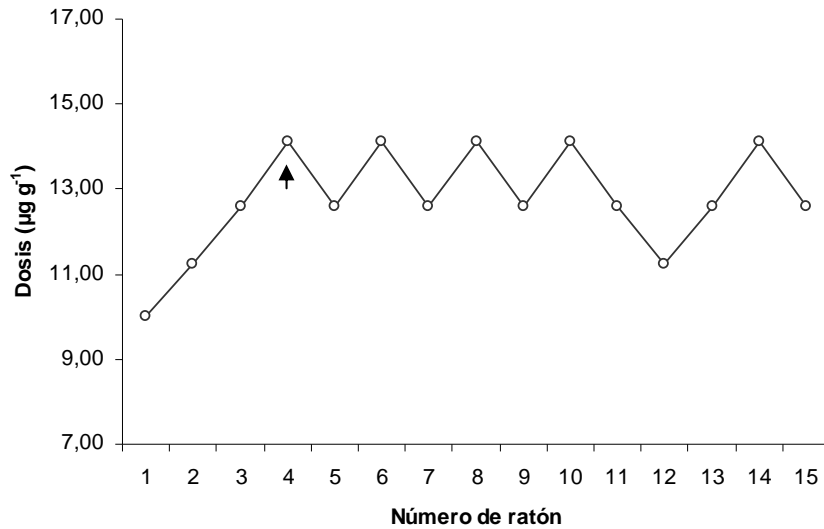


Figura 4. Determinación de la dosis letal cincuenta (DL₅₀) del veneno de ejemplares macho de *Tityus nororientalis* por vip en ratones C57BL/6. DL₅₀, vip, 60 minutos = 13,36 (12,58 – 13,36) µg g⁻¹ de ratón. IV = 5,80%.

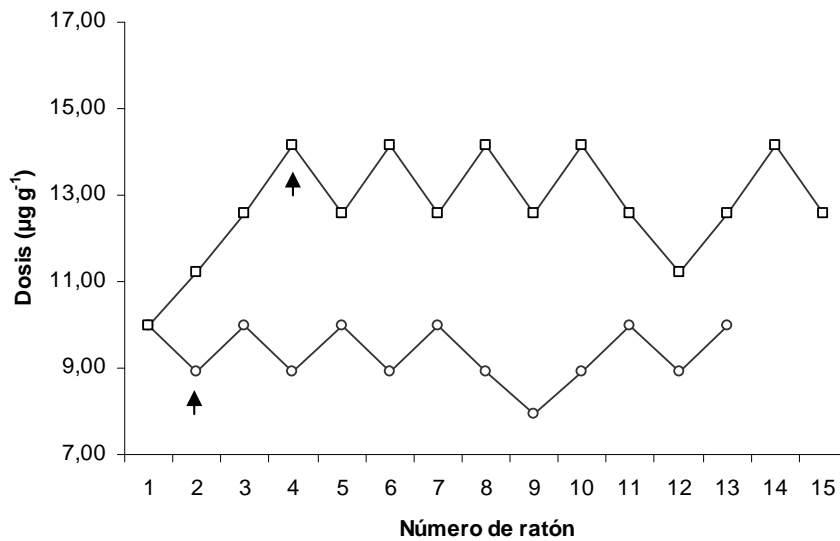


Figura 5. Comparación de las dosis letales cincuenta (DL₅₀) del veneno de ejemplares hembras y machos de *Tityus nororientalis* en ratones C57BL/6. DL₅₀, vip, 60 minutos: ♀♀ (línea inferior) = 9,46 (8,91 – 9,46) µg g⁻¹ de ratón. ♂♂ (línea superior) = 13,36 (12,58 – 13,36) µg g⁻¹ de ratón. Kruskal-Wallis = 18,95; *p* = 0,00001.

Seguidamente, en el 63,60% exoftalmos, hipotonía del tren posterior y

temblores generalizados. Con menor frecuencia parálisis espástica (45,60%); deshidratación (36,30%), defecación líquida (27,30%); micción, relajación de esfínteres, hipoactividad (18,20%) e hipotonía del tren posterior (9,10%). Algunos signos se observaron fundamentalmente en la población de ratones que fallecieron por efecto tóxico del veneno: bradipnea/apnea (5/5 ratones muertos y 3/6 ratones sobrevivientes), defecación pastosa (5/5 muertos y 3/6 vivos), temblores generalizados (5/5 muertos y 3/6 vivos), exoftalmos (5/5 muertos y 2/6 vivos), hipotonía del tren posterior (5/5 muertos y 1/6 vivos) y parálisis espástica (5/5 muertos y 0/6 vivos).

Similarmente, con el veneno de los machos (tabla 6), se observaron 25 signos clínicos de toxicidad; con frecuencias equivalentes a las desarrolladas por toxicidad aguda con el veneno de las hembras. Análogamente, el veneno de los machos, produce algunos signos observados fundamentalmente en la población de ratones que fallecieron: temblores generalizados (6/6 muertos y 3/5 vivos), bradipnea/apnea (6/6 ratones muertos y 3/5 ratones sobrevivientes), exoftalmos (6/6 muertos y 2/5 vivos), parálisis espástica (6/6 muertos y 0/6 vivos) e hipotonía del tren posterior (5/6 muertos y 0/5 vivos).

El tiempo de aparición de los signos inducidos por efecto de toxicidad aguda, del veneno de ejemplares hembra de *Tityus nororientalis*, fue gradual en los animales de la corrida válida (figura 6). Los signos inmediatos de toxicidad aguda, en los primeros 10 minutos, fueron hiperactividad, seguida de taquipnea, piloerección, inicio de sialorrea, distensión abdominal, limpieza nariz/boca y movimientos deglutorios. Posterior a éstos, en el espectro medio de toxicidad moderadamente grave, entre los 10 y 20 minutos, se instaló evacuación pastosa, inicio de secreción ocular, contractura de la piel del dorso, signo de Straub, convulsiones, marcha atáxica y temblores/fasciculaciones. Tardíamente como expresión de toxicidad grave, después de los 20 minutos, los ratones presentaron sialorrea abundante (23,0 m), hipotonía del

Tabla 5. Frecuencia de manifestaciones clínicas inducidas por toxicidad aguda del veneno de ejemplares hembra de *Tityus nororientalis* en ratones C57BL/6.

CONDICIÓN RATÓN (N) ⇔ SIGNO DE TOXICIDAD ↓	MUERTOS					VIVOS						N	%
	R ₃	R ₅	R ₇	R ₈	R ₁₁	R ₂	R ₄	R ₆	R ₉	R ₁₀	R ₁₂		
Hiperactividad	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	11	100
Movimientos deglutorios	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	11	100
Rascado de nariz/boca	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	11	100
Signo de Straub	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	11	100
Disnea: Taquipnea	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	11	100
Sialorrea (inicio)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	11	100
Piloerección	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	10	90,9
Limpieza nariz boca	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	10	90,9
Marcha atáxica	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	10	90,9
Sialorrea abundante	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	9	81,8
Convulsiones	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	8	72,7
Disnea: RAF	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	8	72,7
Secreción ocular	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+	-	8	72,7
Defecación pastosa	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	+	8	72,7
Contractura piel del dorso	+	-	+	+	+	-	+	-	+	+	+	8	72,7
Distensión abdominal	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	8	72,7
Disnea: Bradipnea/Apnea	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	8	72,7
Exoftalmos	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	7	63,6
Hipotonia tren posterior	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	7	63,6
Temblores generalizados	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	7	63,6
Parálisis espástica	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	5	45,6
Deshidratación	-	-	+	-	-	-	+	+	+	-	-	4	36,4
Defecación líquida	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	+	3	27,3
Micción	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	2	18,2
Relajación de esfínteres	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	2	18,2
Hipoactividad	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	2	18,2
Hipotonia tren anterior	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	1	9,1

RAF: Respiración Abdominal Forzada

Tabla 6. Frecuencia de manifestaciones clínicas inducidas por toxicidad aguda del veneno de ejemplares macho de *Tityus nororientalis* en ratones C57BL/6.

CONDICIÓN RATÓN (N) ⇔ SIGNO DE TOXICIDAD ↓	MUERTOS						VIVOS					N	%
	R ₄	R ₆	R ₈	R ₁₀	R ₁₁	R ₁₄	R ₅	R ₇	R ₉	R ₁₂	R ₁₃		
Hiperactividad	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	11	100
Contractura piel del dorso	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	11	100
Disnea: RAS	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	11	100
Hipotonía tren posterior	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	11	100
Disnea: Taquipnea	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	11	100
Movimientos deglutorios	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	11	100
Piloerección	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	11	81,8
Sialorrea (inicio)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	11	100
Defecación pastosa	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	10	90,9
Limpieza de nariz/boca	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	10	90,9
Convulsiones	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	10	90,9
Disnea: RAF	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	10	90,9
Marcha atáxica	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	10	90,9
Signo de Straub	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	9	81,8
Secreción ocular	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	9	81,8
Sialorrea abundante	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	9	81,8
Disnea: Bradipnea/Apnea	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	9	81,8
Temblores generalizados	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	9	81,8
Exoftalmos	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	8	72,7
Distensión abdominal	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	+	8	72,7
Hipoactividad	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	8	72,7
Parálisis espástica	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	6	54,5
Hipotonía tren anterior	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	5	45,5
Defecación líquida	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	1	9,1
Micción	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	1	9,1

RAF: Respiración Abdominal Forzada

tren posterior (24,5 m), temblores generalizados (25,0 m), disnea caracterizada por periodos de bradipnea alternada con apnea (27,5 m) hasta finalmente la sobrevivencia

de los animales. En algunos casos, otro signo de toxicidad severa fue la relajación de esfínteres.

La sialorrea abundante y la disnea (caracterizada por respiración forzada abdominal evolucionando a bradipnea-apnea), como signos de toxicidad grave, se expresaron prematuramente en el grupo de ratones que murieron (sialorrea = 14,0 m; disnea = 17,0 m) cuando se compararon con los vivos (sialorrea = 23,0 m; disnea = 27,0 m) ($p = 0,0001$) (figura 6). El exoftalmos bilateral (21,0 m) y la parálisis espástica (39,0 m), en el espectro de toxicidad severa, surgen casi exclusivamente en este grupo. La parálisis espástica precede a la muerte (40,0 m) de los animales.

Similarmente, con el veneno de los machos (figura 7), el tiempo de aparición de los signos fue gradual; caracterizados por los tres grupos de signos: (1) los inmediatos (primeros 10 minutos), (2) los del espectro medio de toxicidad moderadamente grave (entre los 10 y 20 minutos) y los de presentación tardía como expresión de toxicidad grave (después de los 20 minutos). Al igual que con el veneno de las hembras, los signos de sialorrea abundante y la disnea (caracterizada por respiración forzada abdominal evolucionando a bradipnea-apnea) se expresaron prematuramente en el grupo de ratones que murieron (sialorrea = 19,0 m; disnea = 22,5 m) cuando se compararon con los vivos (sialorrea = 28,0 m; disnea = 36,0 m) ($p = 0,0001$) (figura 7). El exoftalmos bilateral (28,0 m) y la parálisis espástica (44,0 m), en el espectro de toxicidad severa, surgen casi exclusivamente en este grupo. La parálisis espástica precede a la muerte (45,0 m) de los animales.

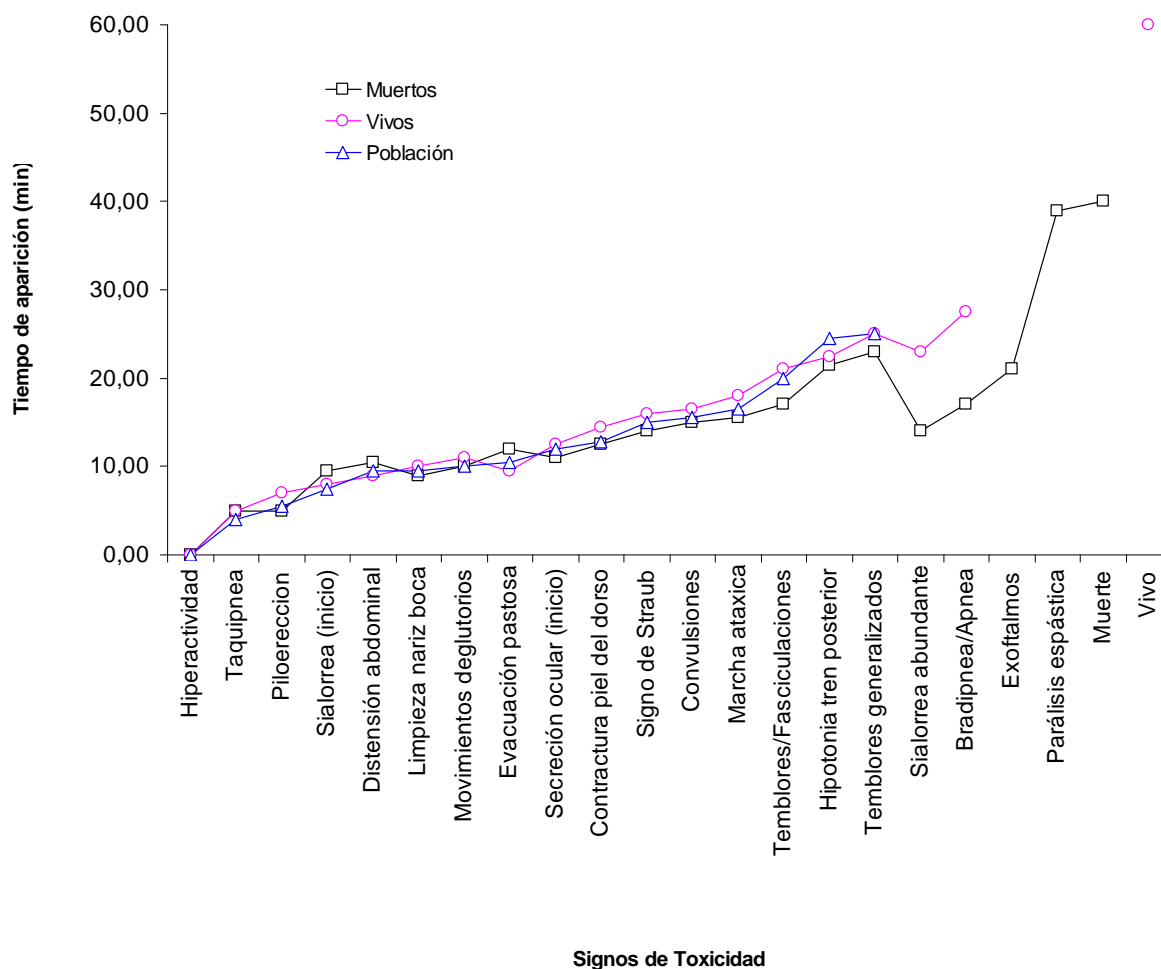


Figura 6. Comparación del curso temporal de toxicidad aguda experimental entre ratones fallecidos y sobrevivientes sometidos al veneno de ejemplares hembra de *Tityus nororientalis*. El curso temporal de color azul indica el tiempo de presentación de los signos sin diferencias estadísticamente significativas cuando se comparan las dos poblaciones de ratones C57BL/6.

En la figura 8 se comparan los cursos temporales de toxicidad aguda, entre las poblaciones de ratones C57BL/6 fallecidos y sobrevivientes, al utilizar el veneno de machos y hembras de *Tityus nororientalis*. Con ambos venenos la sialorrea abundante y la bradipnea-apnea se expresaron prematuramente en el grupo de ratones que murieron ($p = 0,0001$). Con ambos venenos el exoftalmos bilateral y la parálisis espástica son signos casi exclusivos del grupo de ratones que fallecieron. En todos los casos la parálisis espástica antecedió la muerte de los animales.

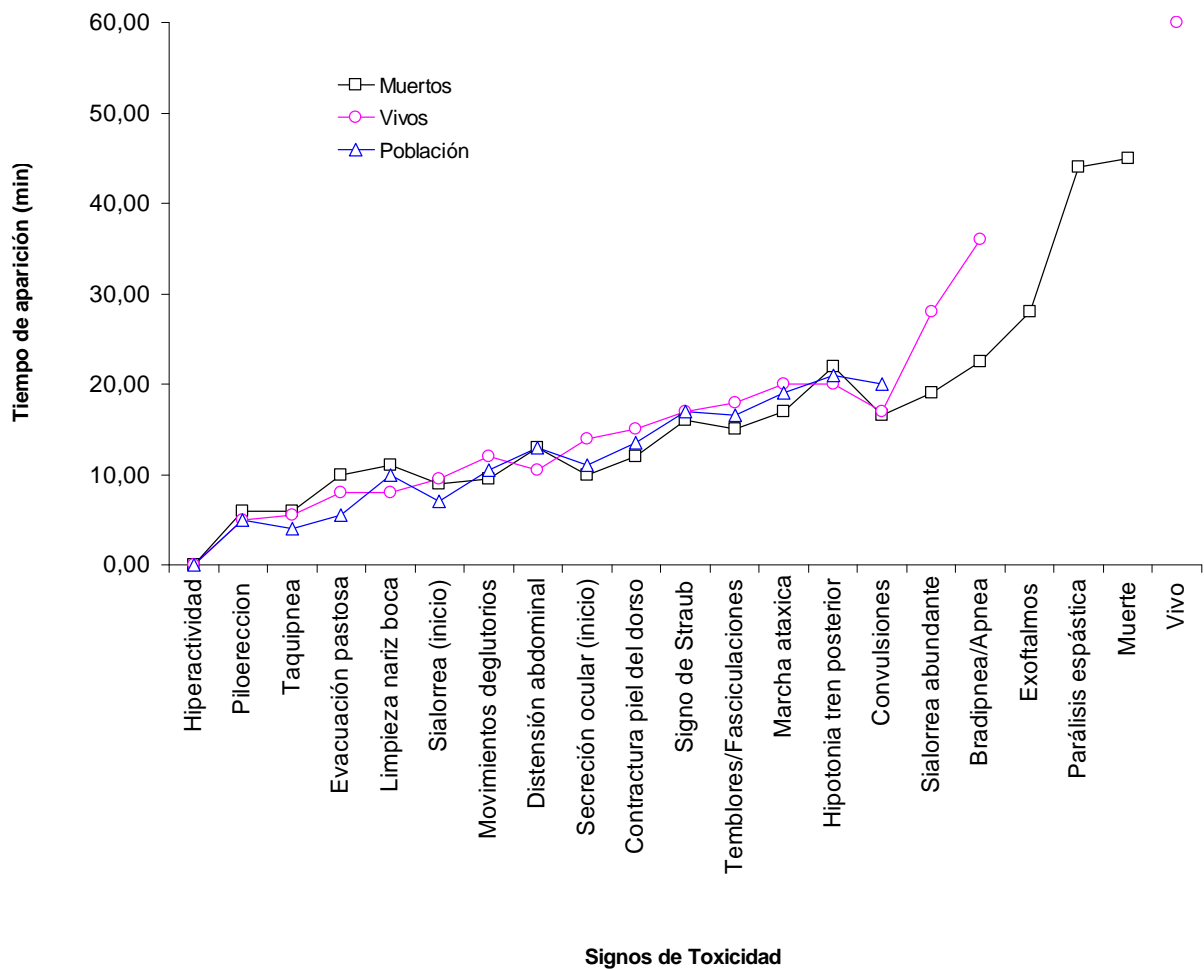


Figura 7. Comparación del curso temporal de toxicidad aguda experimental entre ratones fallecidos y sobrevivientes sometidos al veneno de ejemplares macho de *Tityus nororientalis*.

Existen diferencias significativas ($p = 0,04$), entre ambos venenos y entre los grupos de supervivientes y fallecidos, cuando se compara sialorrea abundante, exoftalmos bilateral y especialmente bradipnea/apnea, como expresión de toxicidad grave (después de los 20 minutos). Aunque no significativos, la parálisis espástica y la muerte ocurrió relativamente más temprano en los ratones inyectados con el veneno de los ejemplares hembra de *Tityus nororientalis*.

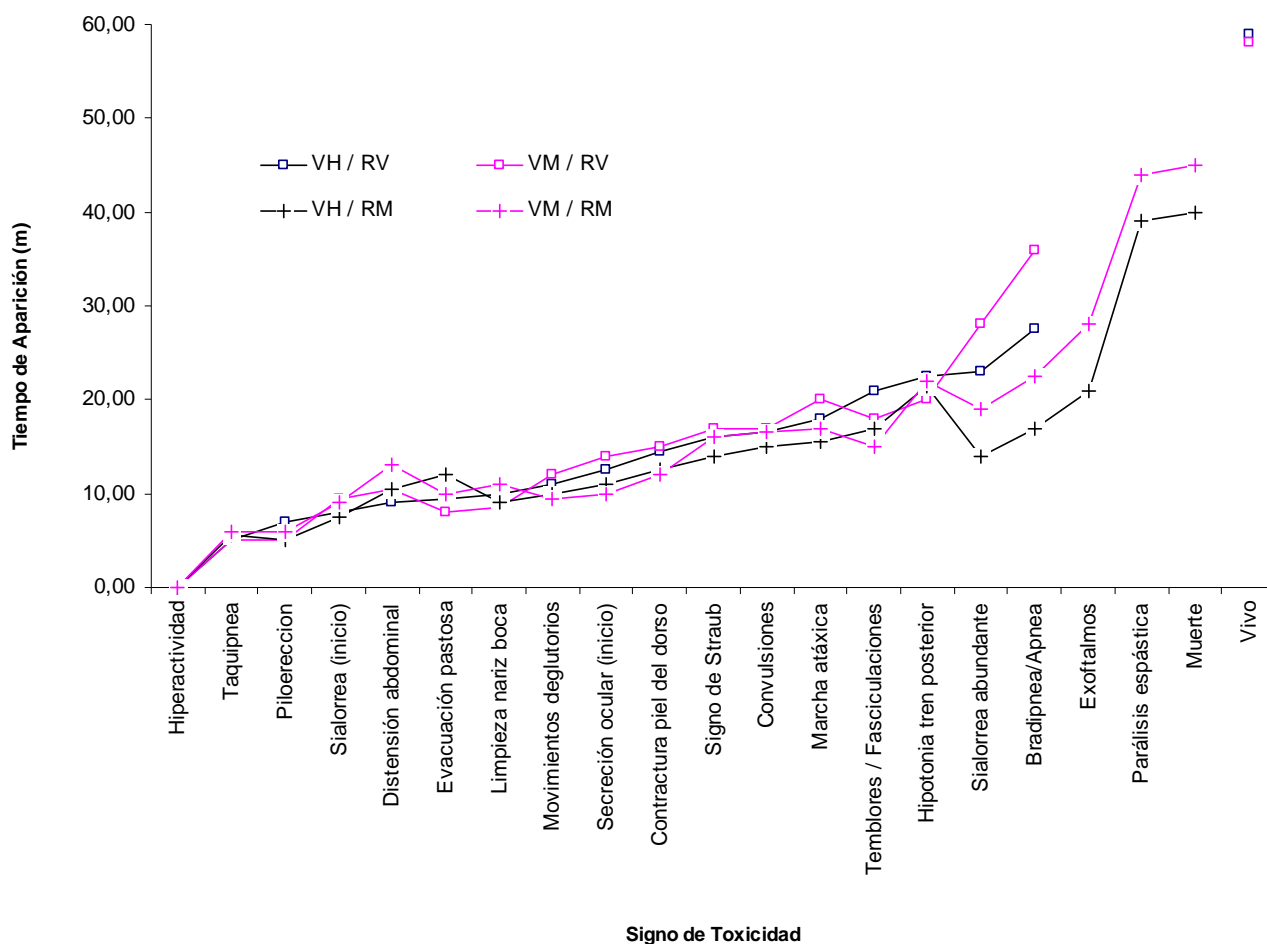


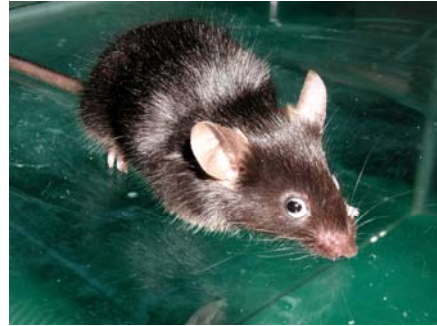
Figura 8. Comparación del curso temporal de toxicidad aguda experimental entre ratones fallecidos y sobrevivientes sometidos al veneno de ejemplares hembras y machos de *Tityus nororientalis*. La línea de color negro indica el veneno de los ejemplares hembra (VH) de *Tityus nororientalis*; el fucsia el de los machos (VM). El símbolo (□) indica los ratones sobrevivientes (RV) y el símbolo (+) los fallecidos (RM) por efecto tóxico de los venenos.

Efectos de toxicidad aguda se presentan en las figuras 9, 10 y 11: facies tóxica y piloerección, signos de estimulación muscarínica (sialorrea, secreción ocular y defecación pastosa), signo de Straub, convulsiones e hipotonía muscular. Los signos antes de morir fueron los periodos de bradipnea/apnea con cianosis peribucal. La parálisis espástica se manifestó inmediatamente antes de la muerte de todos los ratones en la que el animal adoptaba una posición parecida al opistótono con

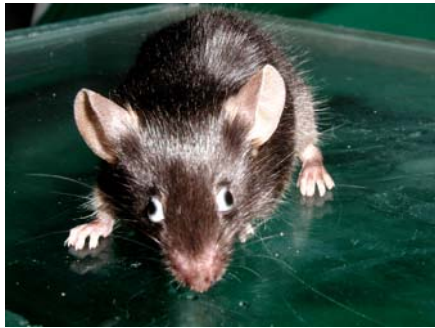
hiperextensión del tren posterior. Todos los ratones, antes del *exitus letalis*, presentaron apnea prolongada.



A



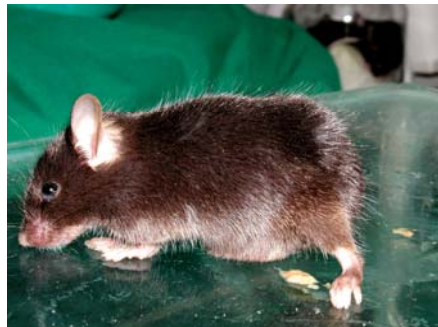
b



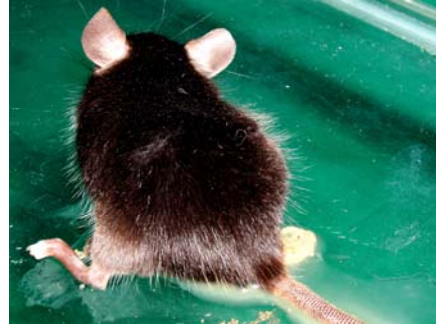
c



d



e

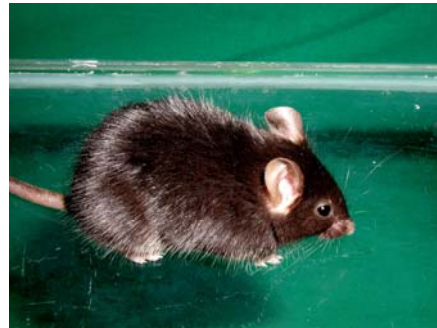


f

Figura 9. Comparación de un ratón C57BL/6 control con uno sobreviviente inyectado, por vip, con el veneno de ejemplares hembra de *Tityus nororientalis* mostrando algunos signos de toxicidad aguda. (a) Ratón testigo (sano). (b), (c) y (d) Secreción ocular evidente. En (c y d), nótese exoftalmos bilateral (e) Hipotonía, defecación pastosa y distensión abdominal. (f) Defecación líquida (observada con baja frecuencia).



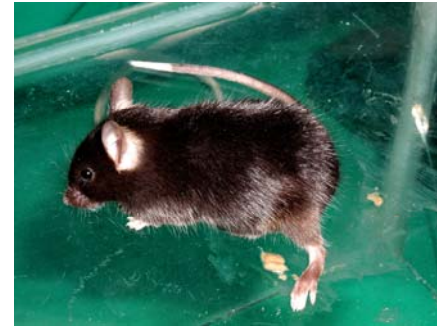
a



b



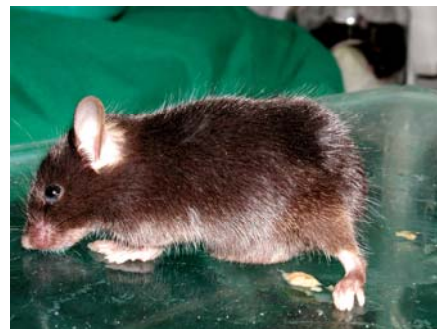
c



d



e



f

Figura 10. Comparación de un ratón C57BL/6 control con uno sobreviviente inyectado, por vip, con el veneno de ejemplares hembra de *Tityus nororientalis* mostrando algunos signos de toxicidad aguda. (a) Ratón testigo (sano). (b) Piloerección (nótese la postura del animal mostrando debilidad muscular del tren posterior). (c), (d), y (e) Hipotonía. En (f) nótese defecación pastosa y distensión abdominal).



Figura 11. Ratón C57BL/6 sobreviviente inyectado por vip con el veneno de ejemplares hembra de *Tityus nororientalis* mostrando el signo de Straub.

DISCUSIÓN

Significado de *Tityus nororientalis* como especie de importancia médica en el Nororiente de Venezuela

Estudios epidemiológicos recientes han permitido establecer que las especies *Tityus zulianus*, *Tityus discrepans* y *Tityus nororientalis* son, respectivamente, los taxa responsables del mayor número de envenenamientos en las zonas Andina, Centro-Norte y Nor-oriental (Borges y De Sousa, 2006; Borges y De Sousa, 2009). En este trabajo se utilizó el veneno de una población de *Tityus nororientalis* capturada en la localidad tipo de la especie ubicada en Catuaro, municipio Ribero, estado Sucre. Investigaciones en curso demuestran, al presente, que es la especie con el mayor rango de distribución territorial en el nororiente venezolano (De Sousa y Borges, 2009).

El presente trabajo es el primero en demostrar toxicidad diferencial entre el veneno de ejemplares, hembras y machos de *Tityus nororientalis*. Al comparar los efectos de cada veneno de esta especie, inyectado por vía intraperitoneal, en ratones hembra C57BL/6 y al evaluar el curso temporal de aparición de los signos, inducidos como efecto tóxico del envenenamiento agudo experimental; se pudo observar que independientemente del género de procedencia del veneno utilizado en esta investigación, los signos valorados en los ratones son característicos de un cuadro neurotóxico agudo, el cual ya ha sido reportado clásicamente para otros escorpiones de importancia médica en Venezuela (Borges y De Sousa, 2006; De Sousa, 2006; Cornejo, 2008; Cova, 2008; Da Cámara *et al.*, 2008; Hurtado *et al.*, 2008; Sanquíz y González, 2008; Albornoz *et al.*, 2009; De Sousa *et al.*, 2009). Cova (2008) señala que el veneno de diferentes especies venezolanas de *Tityus* produce un síndrome específico que, aunque comparable en su naturaleza neurotóxica, en apariencia son de magnitud y cinética exclusivas de cada taxón. Con los resultados aquí presentados se

refuerza ese concepto propuesto por este autor, demostrando diferencias entre sexos, para una misma especie, entre la magnitud y la cinética de toxicidad cuando se compararon los dos venenos ensayados.

Utilidad del modelo mÙrido C57BL/6 para la evaluaci3n del efecto del veneno de escorpiones de importancia mÙdica en Venezuela

El envenenamiento escorpiónico experimental es un complejo sindromático asociado fundamentalmente a disfunción en los sistemas cardiorrespiratorio, nervioso (central y periférico) y de autacoides y neuroendocrino (no evaluado en este trabajo) (Sofer *et al.*, 1996; Mazzei *et al.*, 1997; Voronon *et al.*, 1999; Otero *et al.*, 1998; Mazzei *et al.*, 2002; Otero *et al.*, 2004; Borges y De Sousa, 2006; De Sousa *et al.*, 2007a; Borges y De Sousa, 2009); produciendo los signos y síntomas clásicos observados en el escorpionismo (humano, veterinario y experimental). Por lo tanto, los signos clínicos observados para cualquiera de los venenos utilizados (procedentes de ejemplares hembras o machos de *Tityus nororientalis*) son diversos y de cuatro tipos generales: (1) los colinérgicos postganglionares, tanto muscarínicos como nicotínicos, producto de hiperestimulación del sistema nervioso parasimpático; predominantes sobre los otros mecanismos, (2) los adrenérgicos postganglionares por hiperestimulación del simpático, (3) los del sistema motor y (4) los centrales, que incluyen las convulsiones tónico-clónicas con base en transmisión colinérgica. Estos mecanismos coinciden con lo observado en humanos envenenados por especies de escorpiones del género *Tityus* en diferentes países de América del Sur (Borges y De Sousa, 2006), incluyendo Venezuela (De Sousa *et al.*, 2000). Por lo tanto, tal analogía valida el uso del modelo mÙrido, especialmente de la cepa C57BL/6, para la estimación del efecto de venenos de escorpi3n procedentes de diferentes áreas endémicas en el paÍs; modelo propuesto previamente en otros trabajos (Marcano y Mundaray, 2000; Marín y Rodríguez, 2000; Boadas y Marcano, 2004; Turkali, 2004;

De Sousa, 2006; Cornejo, 2008; Cova, 2008; Hurtado *et al.*, 2008; Albornoz *et al.*, 2009; De Sousa y Borges, 2009; De Sousa *et al.*, 2009).

Hurtado *et al.* (2008) indicaron que el índice letal cincuenta, del veneno de *Tityus nororientalis* (capturados en la localidad de Las Melenas, municipio Mariño, Península de Paria, estado Sucre) fue significativamente menor en ratones hembra C57BL/6 ($DL_{50} = 8,43 \mu\text{g} \times \text{g}^{-1}$ de ratón) que el obtenido en ratones NMRI ($DL_{50} = 28,18 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ de ratón); y éste, menor que el obtenido en los BALBc ($DL_{50} = 40,07 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ de ratón); demostrando una mayor sensibilidad de C57BL/6 al efecto tóxico del veneno de esta especie. Por lo cual, los autores proponen la utilidad de la cepa C57BL/6 como un excelente modelo funcional, de bioensayo, para evaluar los venenos de escorpiones venezolanos. Recientemente, Albornoz *et al.* (2009) incorporaron los estudios histopatológicos a los ensayos de letalidad y curso temporal de toxicidad aguda, correlacionando, en lo posible, las posibles alteraciones de la arquitectura histológica con las manifestaciones cardiovasculares que, en apariencia, se desarrollan en los humanos. Los autores, adicionalmente, indicaron que en las cepas homocigóticas (BALBc y C57BL/6) la necrosis celular cardiaca fue más acentuada. Este trabajo ratifica los hallazgos relacionados con los índices de letalidad y el curso temporal de toxicidad aguda de *Tityus nororientalis* para la cepa C57BL/6.

Diferencias y similitudes entre el envenenamiento experimental causado por el veneno de ejemplares hembras o machos de *Tityus nororientalis*

Los resultados obtenidos en el presente trabajo, relacionados con los índices de letalidad y el curso temporal de toxicidad, especialmente en su fase tardía, confirman que el síndrome de envenenamiento experimental causado por la toxinas de *Tityus nororientalis* en ratones hembra C57BL/6, es sexo-específico, quiere decir, depende del sexo (hembras o machos) de origen del veneno.

Borges *et al.* (2006b), mediante estudios moleculares y de espectrometría de masas, demostraron que los mapas proteicos de los venenos de *Tityus discrepans* y de *Tityus zulianus* son exclusivos de cada uno de ellos; por lo cual, igualmente podría existir la posibilidad que las divergencias entre los venenos de machos y hembras de *Tityus nororientalis* sean producto de diferencias en la abundancia de los componentes tóxicos comunes y/o a la presencia de toxinas específicas para cada uno de ellos. Similarmente Borges *et al.* (2006a) indicaron que *Tityus imei*, especie de distribución restringida a la vertiente sur de la Sierra de Portuguesa, contiene en su veneno neurotoxinas con características similares a las anteriormente mencionadas, detectadas por espectrometría de masas. Resultados preliminares indican, para otros *Tityus* venezolanos de importancia médica, la presencia de componentes exclusivos para cada uno de ellos, aún cuando poseen masas muy cercanas, que corresponden al intervalo de las toxinas activas para los canales de sodio (Borges y De Sousa, 2006; Borges *et al.*, 2006a; Borges *et al.*, 2006b). La técnica MALDI-TOF ha permitido establecer que la huella peptídica (para el mencionado intervalo de 6-8 kDa) es especie-específico (Borges *et al.*, 2006a), de tal manera que las diferencias clínicas observadas, en diferentes regiones del país, pueden tener como base diferencias en los proteomas de las glándulas de veneno de las especies involucradas. Estas ideas planteadas por Borges y sus colaboradores (2006a; 2006b) podrían tener su paralelo dentro de una misma especie cuando se evalúa la procedencia del veneno según el género del escorpión.

Tityus nororientalis, la especie de más amplia distribución en el Nororiente (De Sousa en preparación), es un taxón polimórfico desde el punto de vista de la composición de su veneno, según lo reportado por Borges *et al.* (2008), quienes hallaron diferencias apreciables en el patrón electroforético de los venenos de ejemplares provenientes de Alto Llano (Anzoátegui) y Caripe (Monagas); demostrando proteomas distintos. La tabla 7 demuestra cualitativamente tal polimorfismo, desde el punto de vista de los títulos letales (DL₅₀), mediante la

diferencia en toxicidad entre los venenos producidos por distintas poblaciones de *Tityus nororientalis* de Anzoátegui (Alto Llano, municipio Sotillo), Monagas (Sabana de Piedra, municipio Caripe) y Sucre (Las Melenas, municipio Mariño), previamente evaluados, comparados con la población de *Tityus nororientalis* (Catuario, municipio Rivero, Sucre) que se presenta en este trabajo. Las comparaciones de los índices letales indicarían dos grupos de toxicidad para los venenos de los ejemplares hembra: (a) uno más potente conformado por las poblaciones de escorpiones provenientes de Las Melenas (Península de Paria, Sucre) y de Sabana de Piedra (Serranía del Turimiquire, Monagas) y (b) uno menos potente para los de Alto Llano (Serranía del Turimiquire, Anzoátegui) y Catuario (Serranía del Turimiquire, Sucre); sin embargo, el límite de confianza de la DL_{50} del veneno de los ejemplares hembra, de Catuario, se ubicaría entre los dos grupos de toxicidad. Estos resultados confirmarían, en apariencia, el alto grado de polimorfismo del veneno; posiblemente relacionado con la expresión proteómica de los venenos de escorpiones provenientes de distintas localidades. La población de machos, analizada en este trabajo, capturada en Catuario, dista aún más de la toxicidad de los ejemplares hembra en términos clínicos y toxicológicos (como lo indica este trabajo); una hipótesis que debería ser evaluada por otras técnicas como MALDI-TOFF para demostrar diferencias cuantitativas entre estos venenos.

Estos resultados toxicológicos, de diferenciación intergenérica, obtenidos para la población de *Tityus nororientalis* de Catuario, necesitarían reconfirmación para otras poblaciones de este taxa del nororiente venezolano y para otros *Tityus* de importancia médica en nuestro país. Por lo pronto, los resultados indicarían la necesidad de utilizar venenos combinados de hembras y machos, en este caso de *Tityus discrepans*, para la preparación del anti-suero venezolano disponible actualmente.

Aunque comparable en su naturaleza neurotóxica, el curso temporal de

toxicidad es de magnitud y cinética diferencial en la fase de toxicidad grave (sialorrea abundante, disnea bradipnea-apnea y exoftalmos) entre los venenos evaluados. En tal sentido, Hurtado *et al.* (2008) indicaron que el espectro medio de toxicidad moderadamente grave y el de toxicidad grave, inducido con el veneno de ejemplares hembra de *Tityus nororientalis*, aunque común, es en apariencia de cinética distinta para las tres cepas de ratones (NMRI, BALBc y C57BL/6) evaluadas en su trabajo. Demostraron que el tiempo de muerte de los ratones, en los tres modelos, fue similar (ocurrió alrededor de los 40 minutos); sin embargo, al comparar las tendencias existieron varios signos que presentaron diferencias, entre ellas los temblores generalizados, signo de Straub, secreción ocular, marcha atáxica y exoftalmos. Lo cual se convierte en una evidencia que soportaría estos resultados.

Tabla 7. Comparación de las DL₅₀ del veneno de ejemplares de *Tityus nororientalis* provenientes de varias localidades del nororiente de Venezuela.

Población de <i>Tityus nororientalis</i>	DL ₅₀		
	mg×kg ⁻¹	Límites de confianza	Kruskall – Wallis; <i>p</i>
Las Melenas, Sucre †	♀♀ = 8,43	7,94 – 8,91	0,00; ns
Sabana de Piedra, Monagas ‡	♀♀ = 8,43	7,94 – 8,91	7,35; <i>p</i> = 0,03
Alto llano, Anzoátegui (*)	♀♀ = 9,46	9,46 – 10,00	0,00; ns
Catuario, Sucre (§)	♀♀ = 9,46	8,91 – 9,46	
	♂♂ = 13,36	12,58 – 13,36	18,95; <i>p</i> = 0,00001

† Cova, 2008; Hurtado *et al.*, 2009; ‡ Marín y Rodríguez, 2001; * Turkali, 2004; § Este trabajo

Otros arácnidos como *Coremiocnemis tropix* (Araneae, Theraphosidae) muestran variaciones toxinológicas intersexuales en su veneno. Para esta especie de araña, los machos presentan componentes ligeramente más potentes que el de las hembras cuando se evaluó su toxicidad en insectos (grillos); mientras que las hembras poseen efectos más prominentes sobre los tejidos de vertebrados (preparación de unión neuromuscular de pollo). Similarmente, estas diferencias intersexuales fueron observadas en los patrones de composición de los venenos, de hembras y machos, obtenidos por metodología de cromatografía líquida de alta resolución (Herzig y Hodgson, 2009). Estos resultados apoyarían la posibilidad de diferencias en la expresión proteómica del veneno de hembras y machos de *Tityus nororientalis* provenientes de una misma localidad o de localidades distantes. Todas las evidencias apuntarían a confirmar la alta complejidad de los venenos de este grupo taxonómico en el nororiente venezolano.

Alcances de los resultados y su contribución a la elaboración del mapa de letalidad de la escorpiofauna venezolana de importancia médica

El presente trabajo reconfirma que el síndrome del envenenamiento por escorpiones del género *Tityus* en vertebrados es especie-específico (Borges *et al.*, 2004b; 2006a; Cova, 2008); pero también, en apariencia, supeditado al origen genérico del veneno. Estos resultados se suman al conjunto de evidencias moleculares, inmunológicas, bioquímicas, fisiológicas e histopatológicas, ya disponibles, que indicarían que el veneno de *Tityus nororientalis* es altamente complejo. Cova (2008) sugiere que tal complejidad podría estar relacionada, posiblemente, con variaciones estructurales (es decir de, su arquitectura molecular) y/o funcionales (esto es de su enlazamiento a canales iónicos voltaje-dependientes) de las toxinas que constituyen el veneno.

En definitiva, con este trabajo se presentan nuevos elementos que vienen a

reforzar los criterios que determinan la macroregión endémica de escorpionismo en la región Nororiental e Insular (De Sousa *et al.*, 1995; 1996; 1997; 1999; Quiroga *et al.*, 1999; 2000; 2004; De Sousa *et al.*, 2005; 2006; 2007a; 2008a; 2008b) de Venezuela (De Sousa *et al.*, 2000; De Sousa y Borges, 2009), 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 Toxinológicas” planteada por Borges y De Sousa (2006; 2009) para una comprensión integral del escorpionismo en el país.

CONCLUSIONES

Existen diferencias en los parámetros toxicológicos de producción de veneno entre hembras y machos de *Tityus nororientalis*.

La DL₅₀ del veneno de las hembras, bajo las condiciones experimentales establecidas, fue de 9,46 (8,91-9,46) mg kg⁻¹ de ratón y para los machos de 13,36 (12,58-13,36) mg kg⁻¹ de ratón.

El veneno de las hembras fue significativamente más potente, en términos de su índice letal, que el de los machos.

Las manifestaciones colinérgicas, con cualquiera de los venenos, predominaron en el cuadro neurotóxico agudo.

Aunque comparable en su naturaleza neurotóxica, el curso temporal de toxicidad es de magnitud y cinética diferencial en la fase de toxicidad grave (sialorrea abundante, disnea bradipnea-apnea y exoftalmos) entre los venenos evaluados.

Los resultados indicarían la posibilidad de diferencias en la expresión proteómica del veneno de hembras y machos de *Tityus nororientalis* provenientes de una misma localidad o de localidades distantes.

BIBLIOGRAFÍA

Albornoz, E.; Cedeño, O. y Pereira, M. 2009. Cambios histopatológicos agudos causados por el veneno de *Tityus nororientalis* (Scorpiones: Buthidae) en miocardio de ratones NMRI, BALBc y C57BL/6. Trabajo de Pregrado, Departamento de Ciencias Fisiológicas, Universidad de Oriente, Barcelona.

Barona, J.; Otero, R. y Núñez, V. 2004. Aspectos toxicológicos e inmunoquímicos del veneno de escorpión *Tityus pachyurus* pocock de Colombia: Capacidad neutralizante de anti venenos 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.

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 Review*, 14: 339 – 357.

Becerril, B.; Marangoni, S. y Possani, L. 1997. Toxins 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.

Boadas, J. y Marcano, J. 2004. Cuantificación del volumen, cantidad de proteínas y evaluación de la toxicidad del veneno de *Rhopalurus laticauda* (Scorpiones: Buthidae). Trabajo de Pregrado, Departamento de Ciencias Fisiológicas, Universidad de Oriente, Barcelona.

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 (UCV)*, 69: 15-27.

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. y De Sousa, L. 2009. Una aproximación multidisciplinaria para el estudio del envenenamiento por arácnidos en Venezuela. En: *Enfoques y Temáticas en Entomología*. Arrivillaga, J.; El Souki, M. y Herrera, B. (eds). Ediciones Astrodata, Caracas. Págs. 137-153.

Borges, A.; Arantes, E. y Gilglio, 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 (UCV)*, 25: 76-79.

Borges, A.; Trejo, E.; Vargas, A.; Céspedes, G.; Hernández, A. y Alfonso, M. 2004a. Pancreatic toxicity in mice elicited by *Tityus zulianus* and *Tityus discrepans* scorpion venom. *Investigación Clínica*, 45: 269-276.

Borges, A.; Alfonso, M.; García, C.; Winand, N.; Leipold, E. y Heinemann, S. 2004b. Isolation, molecular cloning and functional characterization of a novel B-toxin from the Venezuelan scorpion, *Tityus zulianus*. *Toxicon*, 43: 671-684.

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.; Alfonso, M.; Jowers, M. y Op den Camp, H. 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.; 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.

Cornejo, P. 2008. Registro de *Tityus tenuicauda* Prendini, 2001 (Scorpiones, Buthidae) para Venezuela. Aspectos farmacológicos de su veneno. Trabajo de *Magíster Scientiarium*, Postgrado en Biología Aplicada, Universidad de Oriente, Cumaná.

Cova, Y. 2008. Evaluación de la actividad biológica del veneno de tres especies venezolanas de importancia médica del género *Tityus* (Scorpiones, Buthidae). Trabajo de Pregrado, Departamento de Bioanálisis, Universidad de Oriente, Cumaná.

Da Cámara, N.; Rivas, R. y Rojas, P. 2008. Evaluación de la actividad biológica y dosis letal cincuenta (DL₅₀) del veneno de *Tityus nororientalis* (Scorpiones, Buthidae) en ratones NMRI. Trabajo de Pregrado, Departamento de Ciencias Fisiológicas, Universidad de Oriente, Barcelona.

Dehesa-Dávila, M. 1989. Epidemiological characteristics of scorpion sting in Leon, Guanajuato, Mexico. *Toxicon*, 27: 281-285,

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

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

De Sousa, L. y Borges, A. 2009. Escorpiones y escorpionismo en Venezuela. En: *Enfoques y Temáticas en Entomología*. Arrivillaga, J.; El Souki, M. & Herrera, B. (eds). Ediciones Astrodata, Caracas. Págs. 154-165.

De Sousa, L.; Kiriakos, D.; Jiménez, J.; Michelli, 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 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.; Tilleró, L.; Valdivieso, 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*, 13: 45-51.

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 sting in Venezuela. The northeastern region. Review article. *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. *Investigación Clínica*, 46: 246-254.

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

De Sousa, L.; Boadas, J.; Kiriakos, D.; Borges, A.; Boadas, J.; Marcano, J.; Turkali, I. y De Los Ríos, M. 2007a. 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.; Manzanilla J. y Cornejo-Escobar P. 2007b. Depredación sobre serpiente colúbrida por *Latrodectus* cf. *geometricus* Koch, 1841 (Araneae: Theridiidae). *Ciencia*, 15: 410-412.

De Sousa, L.; Borges, A.; Manzanilla, J.; Biondi, I. y Avellaneda, E. 2008a. Second record of *Tityus bahiensis* from Venezuela: Epidemiological implications. *Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases*, 14: 170-177.

De Sousa, L.; Manzanilla, J.; Borges, A.; Cornejo-Escobar, P. y Gregoriani, T. 2008b. Discovery and description of the male of *Tityus uquirensis* (Scorpiones: Buthidae) from Paria Peninsula, northeastern Venezuela. *Zootaxa*, 1828: 57-68.

De Sousa, L.; Parrilla-Álvarez, P.; Pérez Di Gaeta, P.; Romero, L. y Quiroga, M. 2009. Evaluación de la actividad biológica del veneno de *Tityus gonzalespongai* (Scorpiones, Buthidae) en el modelo C57BL/6. *Saber*, 21: 50-62.

Díaz, R.; Obregón, D. y Romero, A. 2005. Distribución y ecología de *Tityus nororientalis* (Scorpiones, Buthidae) en los estados Anzoátegui, Monagas y Sucre.

Notas sobre su historia natural. Trabajo de Grado para optar al Título de Bachiller en Ciencias, Cátedra de Metodología de la Investigación, Colegio Juan Jacobo Rousseau, Puerto La Cruz.

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

Fet, V. y Lowe, G. 2000. Family Buthidae C. L. Koch, 1837. En: *Catalog of the Scorpions of the World (1758-1998)*. Fet, V.; Sissom, W.; Lowe, G. & Braunwalder, M. (eds). New York Entomological Society, New York. Págs.. 54-286.

Glantz, S. 2002. *Primer of Biostatistics*, quinta edición, Mc Graw- Hill.

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.

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

González-Sponga, M. 1996a. *Guía para identificar escorpiones de Venezuela*. Cuaderno Lagoven. Caracas.

González-Sponga, M. 1996b. Arácnidos de Venezuela: seis nuevas especies del género *Tityus* y redescrición de *Tityus pococki* Hirts, 1907, *Tityus rugosus* (Schekel, 1932) *n. comb.* y *Tityus nematochirus* Mello-Leitão, 1940 (Scorpionida: Buthidae). *Acta Biologica Venezuelica*, 16: 1-38.

Harvey, A.; Bradley K.; Cochran, S.; Rowan, E.; Pratt, J.; Quilleferldt, J. y Jerusalinsky, D. 1998. What can toxins tell us for drugs discovery. *Toxicon*, 36: 1635-1640.

Herzig, V. y Hodgson, W. 2009. Intersexual variations in the pharmacological properties of *Coremiocnemis tropix* (Araneae, Theraphosidae) spider venom. *Toxicon*, 53: 196-205.

Hurtado, A.; Montaña, L. y Rodríguez, F. 2008. Comparación de la actividad biológica y dosis letal cincuenta del veneno de *Tityus nororientalis* (Scorpiones, Buthidae) en ratones albinos de las cepas NMRI y BALBc. Trabajo de Pregrado, Departamento de Ciencias Fisiológicas, Universidad de Oriente, Barcelona.

Illanes, A. 1981. Farmacología de los venenos de escorpión. Trabajo de Ascenso a Profesor Titular. Departamento de Ciencias Fisiológicas, Universidad de Oriente, Barcelona.

Kiriakos, D.; Núñez, P.; Parababire, Y.; García, M.; Medina, J. y De Sousa, L. 2008. First report of human Latrodectism in Venezuela. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 42: 202-204.

Leipold, E.; Hansel, A.; Borges, A. y Heinemann, S. 2006. Subtype specificity of scorpion β -toxin Tz1 interaction with voltage-gated sodium channels is determined by the pore loop of domain-3. *Molecular Pharmacology*, 70: 340-347.

Lourenço, W. y Cuellar, O. 1995. Scorpions, scorpionism, life history strategies and parthenogenesis. Review article. *Journal of Venomous Animals and Toxins*, 1: 51-62.

Lourenço, W.; Cloudsley-Thompson, J.; Cuéllar O.; von Eickstedt, V.; Barraviera, B. y Knox, M. 1996. The evolution of scorpionism in Brazil in recent years. *Journal of Venomous Animals and Toxins*, 2: 121-134.

Manzanilla, J. y De Sousa, L. 2003. Ecología y distribución de *Rhopalurus laticauda* Thorell, 1876 (Scorpiones: Buthidae) en Venezuela. *Saber*, 15: 3-14.

Manzanilla, J.; De Sousa, L.; Quiroga, M.; López, H. y Parrilla-Álvarez, P. 2002. Morfología externa de *Rhopalurus laticauda* (Scorpiones: Buthidae). *Saber*, 14: 94-102.

Marcano, M. y Mundaray, J. 2000. Toxicidad aguda y evaluación de la Dosis Letal Cincuenta (DL₅₀) en ratones C57BL/6 inducida por el veneno de una nueva especie del género *Tityus* (*Tityus* n. sp. 1.) del estado Monagas. Trabajo de Pregrado, Departamento de Ciencias Fisiológicas, Universidad de Oriente, Barcelona.

Marín, D. y Rodríguez, A. 2000. Toxicidad aguda y evaluación de la Dosis Letal Cincuenta (DL₅₀) en el modelo murino C57BL/6 inducida por el veneno de *Tityus* sp. de Sabana de Piedra, estado Monagas. Trabajo de Pregrado, Departamento de Ciencias Fisiológicas, Universidad de Oriente, Barcelona.

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.

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.

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

Porras, 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.; 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.; Illanes, A.; González, A. y Jaramillo, E. 1982. Mantención de escorpiones en el laboratorio, Orden Scorpionida, Buthidae, *Rhopalurus laticauda* (Thorell, 1876). Influencia de la alimentación. *Acta Científica Venezolana*, 33: 502-508.

Quiroga, M.; Parrilla-Álvarez, P.; 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.; 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-Álvarez, P.; 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.

Rojas-Runjaic, F. y De Sousa, L. 2007. Catálogo de los escorpiones de Venezuela (Arachnida: Scorpiones). *Boletín de la Sociedad Entomológica Aragonesa*, 40: 281-307.

Ross, M. 1996. Pharmacodynamics. Mechanisms of drug action and the relationship between drug concentration and effect. *In*: Hardman, J.; Limbird, L.; Molinoff, P.; Ruddon, R. y Goodman-Gilman A. (Ed), Goodman and Gilman, the pharmacological basis of therapeutics. Ninth Edition. New York: McGraw-Hill, pp. 29-41.

Saldarriaga, M. y Otero, R. 2000. Los Escorpiones: aspectos ecológicos, biológicos y toxinológicos. *Med-UNAB*, 3: 17-23.

Sanquíz, M. y González, Z. 2008. Evaluación de la actividad biológica del veneno de *Tityus nororientalis* en ratones de la cepa BALB/c. Trabajo de Grado para optar al Título de Bachiller en Ciencias, Cátedra de Metodología de la Investigación, Colegio Nuestra Señora de Lourdes, Puerto La Cruz.

Sevcik, C. 1987. DL₅₀ determinations: Objections to the method of Beccari as modified by Molinengo. *Toxicon*, 25: 779-783.

Sofer, S.; Gueron, M.; White, R.; Lifshitz, M. y Apte, N. 1996. Interleukin-6 release following scorpion sting in children. *Toxicon*, 34: 389-392.

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.

Voronov, E.; Apte, N. y Sofer, S. 1999. The systemic inflammatory response syndrome related to the release of cytokines following severe envenomation. *Journal of Venomous Animals and Toxins*, 5: 5-3.

HOJA DE METADATOS

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

Título	Evaluación De La Actividad Biológica Del Veneno De Ejemplares Machos Y Hembras De <i>Tityus nororientalis</i> (SCORPIONES, BUTHIDAE) en el Modelo Múrido C57BL/6 (Modalidad: Investigación)
Subtítulo	

Autor(es)

Apellidos y Nombres	Código CVLAC / e-mail	
CHADEE B. ROSA I.	CVLAC	11.778.659
	e-mail	chadeeburgos@gmail.com
	e-mail	
	CVLAC	
	e-mail	
	e-mail	
	CVLAC	
	e-mail	
	e-mail	
	CVLAC	
	e-mail	
	e-mail	

Palabras o frases claves:

Scorpiones, Buthidae
<i>Tityus</i>
Veneno
Toxicidad
DL ₅₀
Variación intersexual

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

Líneas y sublíneas de investigación:

Área	Subárea
Ciencias	Bioanálisis
	Farmacología
	Toxinología

Resumen (abstract):

El presente trabajo se realizó con el objeto de evaluar parámetros de producción y de toxicidad diferencial intersexual del veneno de *Tityus nororientalis* González-Sponga, 1996 (Scorpiones, Buthidae), en el modelo mûrido, en términos de producción de veneno, título letal y curso temporal del envenenamiento agudo experimental causado por el veneno de ejemplares hembras y machos de esta especie de escorpión de la región Nororiental de Venezuela. La actividad biológica de los venenos fue ensayada luego de su inyección intraperitoneal en ratones hembra C57BL/6 de 15-25 g de peso. La letalidad fue cuantificada a través de la dosis letal cincuenta (DL₅₀), determinada según el método secuencial de Dixon y Mood para una hora de experimentación. El efecto clínico de los venenos se evaluó observando el curso temporal de toxicidad aguda experimental. Los resultados indicaron, en términos de producción de veneno, que cada hembra de *Tityus nororientalis*, por estimulación eléctrica, produce en promedio para peso y volumen, 0,98 mg y 2,34 µl de veneno; valores significativamente menores al de los machos (en promedio 2,39 mg y 6,25 µl). La letalidad (en mg kg⁻¹) del veneno de las hembras fue significativamente superior [9,46 (8,91-9,46)] al de los ejemplares macho [13,36 (12,58-13,36); *p* = 0,0008]. En todos los casos, el cuadro clínico indicó neurotoxicidad aguda de los venenos ensayados; con signos predominantemente colinérgicos (con algunas manifestaciones adrenérgicas y centrales), similares a aquellos observados en humanos envenenados. Aunque comparable en su naturaleza neurotóxica, el curso temporal de toxicidad entre los dos venenos es de magnitud y cinética diferencial fundamentalmente en la fase de toxicidad grave (sialorrea abundante, disnea bradipnea-apnea, exoftalmos y parálisis espástica); tales signos aparecieron de manera significativamente más temprana en el caso de los animales inyectados con el veneno de hembras de *Tityus nororientalis*. Los resultados obtenidos indicarían variaciones intersexuales del veneno en esta especie que podrían estar relacionadas con su expresión proteómica y que, adicionalmente, apuntaría a confirmar la alta complejidad de los venenos de este grupo taxonómico con expresión en diversidad toxinológica genérica dentro de la misma especie.

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

Contribuidores:

Apellidos y Nombres	ROL / Código CVLAC / e-mail	
De Sousa, Leonardo	ROL	CA <input type="checkbox"/> A <input type="checkbox"/> T <input checked="" type="checkbox"/> J <input type="checkbox"/> S <input type="checkbox"/> U <input type="checkbox"/> U <input type="checkbox"/>
	CVLAC	14.214.493
	e-mail	leonardodesousa@yahoo.com
	e-mail	
Bianchi, Olga	ROL	CA <input type="checkbox"/> A <input type="checkbox"/> T <input type="checkbox"/> J <input type="checkbox"/> S <input type="checkbox"/> U <input type="checkbox"/> U <input checked="" type="checkbox"/>
	CVLAC	8.444.764
	e-mail	olga_maria_bianchi@hotmail.com
	e-mail	
Cornejo-Escobar, Pablo	ROL	CA <input type="checkbox"/> A <input type="checkbox"/> T <input type="checkbox"/> J <input type="checkbox"/> S <input type="checkbox"/> U <input type="checkbox"/> U <input checked="" type="checkbox"/>
	CVLAC	24.129.599
	e-mail	Cepablo5@yahoo.com
	e-mail	

Fecha de discusión y aprobación:

Año	Mes	Día
2010	01	29

Lenguaje: spa

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

Archivo(s):

Nombre de archivo	Tipo MIME
Tesis_RCHB.doc	Word

Alcance:

Espacial : Sucre

Temporal: Temporal

Título o Grado asociado con el trabajo: Licenciatura en Bioanálisis

Nivel Asociado con el Trabajo: Licenciatura

Área de Estudio: Bioanálisis

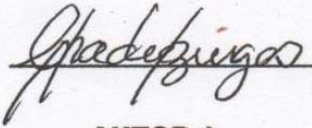

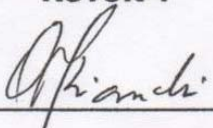
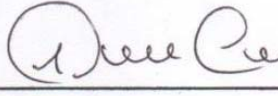
Institución(es) que garantiza(n) el Título o grado:

Universidad de Oriente (UDO), 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
 TUTOR	 JURADO 1	 JURADO 2

POR LA SUBCOMISION DE TESIS: