



UNIVERSIDAD DE ORIENTE
NÚCLEO DE ANZOÁTEGUI
ESCUELA DE CIENCIAS DE LA SALUD
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FISIOLÓGICAS
SECCIÓN DE FARMACOLOGÍA

**CAMBIOS HISTOLÓGICOS AGUDOS CAUSADOS POR EL
VENENO DE *Tityus discrepans* (SCORPIONES, BUTHIDAE) EN
TEJIDO CARDIACODE RATONES C57BL/6**

Asesores:

Adolfo Borges-Strauss
Leonardo De Sousa

Trabajo de Grado presentado por:

Rojas González, Yleana de Los Ángeles

Como requisito parcial para optar al título de Médico-Cirujano

Barcelona, enero de 2013



UNIVERSIDAD DE ORIENTE
NÚCLEO DE ANZOÁTEGUI
ESCUELA DE CIENCIAS DE LA SALUD
COMISIÓN TRABAJO DE GRADO

DECLARACIÓN JURADA

El Trabajo de Grado presentado por la Estudiante Universitaria **Rojas González, Yleana de Los Ángeles** C. I. № V-17.264.549, titulado “**CAMBIOS HISTOLÓGICOS AGUDOS CAUSADOS POR EL VENENO DE *Tityus discrepans* (SCORPIONES, BUTHIDAE) EN TEJIDO CARDIACO DE RATONES C57BL/6**”, ha sido aprobado por los miembros del Jurado Evaluador, quienes lo han encontrado correcto en su contenido y forma de presentación; asimismo, declaran que los datos presentados son responsabilidad exclusiva de los autores, en fe de lo cual firman:

Prof. Miguel Flautes
Miembro Principal

Mercedes Matos Pérez
Miembro Principal

Prof. Adolfo Borges-Strauss
Miembro Principal Asesor

Prof. Leonardo De Sousa
Miembro Principal Asesor

Profa. Rosibel Villegas
Coordinadora Comisión de Trabajos de Grado
Escuela de Ciencias de la Salud

ENERO 2013

RESUMEN

CAMBIOS HISTOLÓGICOS AGUDOS CAUSADOS POR EL VENENO DE *Tityus discrepans* (SCORPIONES, BUTHIDAE) EN TEJIDO CARDIACO DE RATONES C57BL/6

Rojas González, Yleana de Los Ángeles. Asesores: Borges-Strauss, Adolfo y De Sousa, Leonardo. Laboratorio de Toxinología, Grupo de Investigación en Toxinología Aplicada y Animales Venenosos, Escuela de Ciencias de la Salud, Núcleo de Anzoátegui, Universidad de Oriente.

Se capturaron ejemplares de *Tityus discrepans* en la localidad de San Antonio de Los Altos y sus alrededores, municipio Los Salias, estado Miranda. El veneno de los escorpiones se obtuvo mediante estimulación manual del telson. La DL₅₀ del veneno, para una hora de experimentación, fue determinada por el método secuencial de Dixon y Mood. Se escogió al azar, cuatro ratones hembra de la cepa C57BL/6. Se administró por vía intraperitoneal una DL₅₀ de veneno de *T. discrepans*, equivalente a 11,22 µg.g⁻¹ de ratón. Luego fueron evaluados durante sesenta minutos, obteniendo una frecuencia de sobrevivencia de 50% (n = 2). La toxicidad se inició con hiperactividad seguida por signo de Straub, marcha atáxica, piloerección, secreción ocular e inicio de sialorrea. En el espectro medio de toxicidad, moderadamente grave, ocurrió evacuación pastosa, convulsiones (tónico/clónicas), exoftalmos y disnea. En los casos de toxicidad grave se expresó como hipotonía del tren posterior seguida de bradipnea/apnea y finalmente la muerte o sobrevivencia de los animales. Los ratones sobrevivientes fueron sacrificados para evaluar los cambios histológicos en el tejido cardiopulmonar causados por efecto tóxico del veneno. En el tejido cardiaco de los ratones C57/BL6, inyectados con una DL₅₀ de veneno de *T. discrepans*, se evidenciaron cambios en la estructura microscópica del miocardio caracterizadas por áreas focales de tejido cardiaco sustituidas por un sincitio tisular con ausencia de elementos histológicos compatibles con la normalidad del mismo. Las fibras mostraron aspecto hinchado, fragmentado focalmente, sin estriaciones y algunos núcleos vacuolizados. No se observó reacción inflamatoria.

DEDICATORIA

A Dios Todopoderoso, por llenarme de su infinito amor y regalarme el tesoro más grande del mundo; LA VIDA.

A mis padres, por ser ellos el pilar fundamental en quien puedo confiar ciegamente, por el apoyo que siempre me brindan y creer en mí cuando más nadie lo hace. Gracias les doy por guiar cada uno de mis pasos en este largo camino. LOS AMO.

A mis amigos, por todos aquellos momentos de risas, llantos y temores que se presentaron en el pasar de los años, a medida que avanzábamos en nuestra formación académica para lograr el más grande sueño, ese sueño compartido de ser excelentes profesionales.

Rojas González, Yleana de Los Ángeles

AGRADECIMIENTO

A la Universidad de Oriente y Escuela de Ciencias de la Salud, Núcleo de Anzoátegui, por ser nuestra segunda casa y brindarnos la oportunidad de formar parte de su gran Comunidad Académica.

Al Laboratorio de Toxinología y Grupo de Investigación en Toxinología Aplicada y Animales Venenosos, Escuela de Ciencias de la Salud, Núcleo Anzoátegui, por permitirnos el desempeño y elaboración de nuestro Trabajo de Grado.

A nuestros tutores Dr. Adolfo Borges-Strauss y Dr. Leonardo De Sousa por su dedicación, colaboración, apoyo, paciencia, sabiduría, conocimientos, inteligencia y pedagogía en la elaboración de nuestro proyecto de investigación.

Al personal de apoyo, Profesores Mercedes Matos, Aleikar Vásquez-Suárez y Stefano Bónoli, Laboratorio de Toxinología, Grupo de Investigación en Toxinología Aplicada, Secciones de Bioquímica y Fisiología, Departamento de Ciencias Fisiológicas, Escuela de Ciencias de la Salud, Universidad de Oriente, Núcleo Anzoátegui.

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: Subproyecto 1, “Caracterización epidemiológica de los envenenamientos ofídicos y escorpiónicos en Venezuela, con taxonomía de las especies asociadas y bancos de venenos” y Subproyecto 2, “Bioensayos para el estudio de la diversidad de toxinas de la fauna venenosa del país”, de los cuales esta propuesta forma parte.

A todas aquellas personas que de una u otra forma contribuyeron en la realización del presente trabajo, nuestros más profundos agradecimientos. Fue duro y largo el camino, pero al fin lo logramos.

Rojas González, Yleana de Los Ángeles

ÍNDICE

CAMBIOS HISTOLÓGICOS AGUDOS CAUSADOS POR EL VENENO DE <i>Tityus discrepans</i> (SCORPIONES, BUTHIDAE) EN TEJIDO CARDIACODE RATONES C57BL/6	i
DECLARACIÓN JURADA	iii
RESUMEN.....	iv
DEDICATORIA	v
AGRADECIMIENTO	vi
ÍNDICE	vii
LISTA DE FIGURAS.....	ix
INTRODUCCIÓN	1
Taxonomía y Epidemiología	1
Características del veneno	4
Manifestaciones clínicas.....	5
Histopatología.....	6
Antecedentes históricos	7
JUSTIFICACIÓN	11
OBJETIVOS	12

General.....	12
Específicos.....	12
METODOLOGÍA	13
Fuente del veneno de escorpión.....	13
Extracción y purificación parcial del veneno	13
Designación de una DL ₅₀ como dosis controlada del veneno de <i>Tityus</i> <i>discrepans</i>	14
Evaluación de los signos de toxicidad aguda experimental y su curso temporal de aparición.....	15
Descripción de los cambios histológicos agudos en riñones de ratones C57BL/6, causados por la inyección intraperitoneal del veneno de <i>Tityus discrepans</i>	15
RESULTADOS.....	17
Curso temporal de toxicidad aguda experimental	17
Hallazgos histológicos.....	20
Descripción histológica del tejido renal posterior a la inyección de una DL ₅₀ de veneno de <i>Tityus discrepans</i> en ratones de la cepa C57/BL6	22
DISCUSIÓN	24
CONCLUSIONES	28
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	29
Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso	40

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Determinación de la dosis letal cincuenta (DL ₅₀) del veneno de <i>Tityus discrepans</i> por vip en ratones de la cepa C57BL/6.....	14
Figura 2. Curso temporal de aparición de los signos de toxicidad aguda experimental inducidos por el veneno de <i>Tityus discrepans</i> administrado por vip en ratones C57BL/6.	18
Figura 3. Comparación de un ratón C57BL/6 control con uno sobreviviente inyectado, por vip, con el veneno de <i>Tityus tenuicauda</i> mostrando algunos signos de toxicidad aguda.	19
Figura 4. Sección de tejido cardíaco correspondiente a un ratón control de la cepa C57BL/6.	21
Figura 5. Sección de tejido cardíaco de ratón C57BL/6 inyectado con veneno de <i>Tityus discrepans</i>	22
Figura 6. Sección de tejido cardíaco de ratón C57BL/6 inyectado con veneno de <i>Tityus discrepans</i>	23
Figura 7. Tejido cardíaco de ratones C57BL/6 inyectados con una DL ₅₀ del veneno de <i>Tityus discrepans</i> (este trabajo), <i>Tityus zulianus</i> (Marcano y Marcano, 2012) y <i>Tityus nororientalis</i> (Albornoz y col., 2008).	25

INTRODUCCIÓN

Taxonomía y Epidemiología

Los escorpiones de la familia Buthidae, con 80 géneros, poseen la más amplia distribución geográfica en el mundo y contiene la mayoría de las especies de importancia médica (Borges, 1996; González-Sponga, 1996a; De Sousa y col., 2000; Prendini y Wheeler, 2005; Borges y De Sousa, 2006). De esta familia, en el continente americano algunas especies pertenecientes a los géneros *Centruroides* (sureste de Estados Unidos de América, México, América Central y parte del norte de Suramérica) y *Tityus* (parte de Centroamérica, islas del Caribe y Suramérica hasta el norte de Argentina) (Fet y Lowe, 2000) están relacionadas con casos graves y algunas fatalidades debidas a envenenamiento escorpiónico (Dehesa-Dávila, 1989; Lourenço y Cuellar, 1995; Spirandeli-Cruz 1999; De Sousa y col., 2000; Borges y De Sousa, 2006; Gómez y Otero, 2007).

En particular en el Neotrópico, el envenenamiento humano causado por algunos *Tityus* se ha catalogado como problema de salud colectiva y de importancia clínico-epidemiológica especialmente en la población pediátrica en Brasil (Lourenço y Cuellar, 1995; Biondi-Queiroz y col., 1996; Lourenço y col., 1996), Colombia (Otero y col., 1998; Saldarriaga y Otero, 2000; Gómez y col., 2002; Otero y col., 2004; Otero, 2009; Gómez y col., 2010), Panamá (Coronado y col., 2008) y Venezuela (Borges, 1996; De Sousa y col., 2000; Borges y De Sousa, 2006; De Sousa y col., 2007).

En Venezuela, de las 18 familias propuestas por Prendini y Wheeler (2005), cinco están presentes (Buthidae, Chactidae, Euscorpiidae, Hemiscorpiidae y Scorpionidae) agrupando 17 géneros y 184 especies descritas hasta el año 2006 (De

Sousa y col., 2006; Rojas-Runjaic y De Sousa, 2007). El género *Tityus*, comprobadamente de trascendencia médica en el territorio venezolano (Mota y col., 1994; Porras y col., 1994; De Sousa y col., 1996; De Sousa y col., 1997; De Sousa y col., 1999; De Sousa y col., 2000; Borges y col., 2002; De Sousa y col., 2005; Borges y De Sousa, 2006; De Sousa y col., 2007; Mejías y col., 2007; De Sousa y col., 2008a; De Sousa y col., 2008b) contiene 74 especies (Rojas-Runjaic y De Sousa, 2007; Rojas-Runjaic y Becerra, 2008; Borges y col., 2010a; De Sousa, 2011) con una alta diversidad toxinológica (Borges y Rojas-Runjaic, 2007; Borges y col., 2008; Borges y col., 2010a); de las cuales doce especies: *T. zulianus*, *T. valerae*, *T. perijanensis*, *T. falconensis*, *T. pittieri*, *T. isabelceciliae*, *T. discrepans*, *T. quirogae*, *T. nororientalis*, *T. caripitensis*, *T. neoespartanus* y *T. breweri* (Borges y De Sousa, 2006; De Sousa y col., 2007; Borges y col., 2010b) (†) se han incriminado como responsables de accidentes graves y/o fatales, en las regiones más densamente pobladas del país. Otro búpido con significación epidemiológica es *Rhopalurus laticauda* debido a su amplia distribución en el territorio nacional (Manzanilla y col., 2002; Manzanilla y De Sousa, 2003; Rodríguez-Torres y col., 2007; Morocoima y col., 2011), aunque sin importancia clínica, lo cual se corresponde con la baja toxicidad de su veneno (Borges, 1996; De Sousa y col., 2000; Rodríguez-Torres y col., 2007; De Sousa, 2011).

De Sousa y colaboradores (2000) plantearon la existencia de cuatro grandes áreas (macroregiones) endémicas de escorpionismo debidas al género *Tityus*: (1) la Andina (estados Táchira, Mérida, Trujillo y zona sur del lago de Maracaibo); (2)

† Las especies *T. zulianus* y *T. valerae* se distribuyen en la región Andina y sur del Lago de Maracaibo, *T. perijanensis* en la Sierra de Perijá, occidente del estado Zulia, *T. falconensis* en el Macizo Coriano, región Centro-Occidental, *T. pittieri*, *T. isabelceciliae* y *T. discrepans* en la región Centro-Norte Costera, *T. quirogae*, *T. nororientalis*, *T. caripitensis* y *T. neoespartanus* en la región Nororiental e Insular y *T. breweri* en la región nororiental del macizo Guayanés en el estado Bolívar.

Centro-Occidental (estados Lara y Falcón); (3) la Centro-Norte-Costera (norte de los estados Carabobo y Aragua, estados Miranda y 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 y col., 1999; De Sousa y col., 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 *T. neoespartanus* (Borges y De Sousa, 2006; De Sousa y col., 2007) especie relacionada, morfológica y genéticamente, con *T. nororientalis* (González-Sponga, 1996b), el escorpión de mayor importancia epidemiológica en el nororiente venezolano (Díaz y col., 2005; De Los Ríos, 2006; Matos, 2010; Romero, 2010; De Sousa, comunicación personal).

Tityus discrepans fue considerado por De Sousa (2011) como la especie de referencia para Venezuela con base en los siguientes criterios: (a) fue la primera especie del género descrita por Karsch, en 1879, para el país (localidad tipo “Caracas, Venezuela”), (b) su veneno ha sido objeto de amplio estudio experimental desde el año 1990 y (c) su veneno se utiliza como inmunógeno para fabricar el suero antiescorpiónico venezolano empleado actualmente en el país para el tratamiento de los casos de escorpionismo.

Esta especie habita en gran parte de la macroregión de escorpionismo ubicada en la región Centro-Norte-Costera del país (Borges y De Sousa, 2006); taxón incriminado en la mayoría de los envenenamientos ocurridos en algunas áreas del

Distrito Capital, estado Vargas y en los Altos Mirandinos en el estado Miranda (Reyes-Lugo y Rodríguez-Acosta, 2001; Borges y De Sousa, 2006).

Características del veneno

El veneno de estos arácnidos es una mezcla compleja de componentes fundamentalmente neurotóxicos. Estos constituyentes, presentes en los venenos de algunos bítidos, son proteínas de bajo peso molecular, entre 6 000 y 9 000 de masa molar, esenciales en el efecto tóxico, y causantes de las alteraciones fisiológicas observadas tanto en el modelo experimental como en el humano. Sus elementos más letales son las α - y β -toxinas que contienen entre 60 a 70 aminoácidos y 4 puentes disulfuro (hay algunas con tres puentes disulfuro); y cuyos blancos moleculares son los canales de Na^+ voltaje-dependientes en las membranas. Estas toxinas modifican los mecanismos de permeabilidad iónica fundamentales para la homeostasis celular de varios órganos y sistemas (Borges y col., 1990; Becerril y col., 1995; Becerril y col., 1997; Borges y col., 1999; Tsushima y col., 1999; Inceoglu y col., 2001; Barona y col., 2006; Borges y col., 2006a,b; Borges y col., 2006b; Borges y De Sousa, 2006; Leipold y col., 2006; Borges y col., 2008). Además de estos dos grupos principales, otras toxinas que tienen de 30 a 40 aminoácidos y 3 ó 4 puentes disulfuro afectan los canales de potasio y otras a los canales de calcio y de cloro (García y col., 2001; Wudayagiri y col., 2001).

Los efectos farmacológicos posteriores de la interacción de las α - y β -toxinas con los canales de Na^+ 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) (Saldarriaga y Otero, 2000, Mazzei de Dávila y col., 1997, 2002; Borges y col., 2004a,b; Borges y De Sousa, 2006; De Sousa y col., 2007; Borges y col., 2010a).

Manifestaciones clínicas

El escorpionismo es un complejo sindromático principalmente asociado a disfunción en los sistemas cardiorrespiratorio, nervioso y del sistema neuroendocrino y de autacoides especialmente asociado a la liberación de interleukinas (De Sousa y col., 1995; Sofer y col., 1996; Mazzei de Dávila y col., 1997; Otero y col., 1998; Voronov y col., 1999; Mazzei de Dávila y col., 2002; Otero y col., 2004; Borges y De Sousa, 2006; De Sousa y col., 2007).

Las manifestaciones pueden agruparse en aquellas de tipo colinérgico (vómitos, dolor abdominal, sialorrea, náuseas, diaforesis, bradicardia sinusal, hipotensión arterial, bradipnea, broncoespasmo, diarrea, miosis, parestesias, calambres, disartria, fasciculaciones musculares) y de tipo adrenérgico (prurito nasal, palidez cutánea, frialdad de extremidades, piloerección, taquicardia sinusal, hipertensión arterial, taquipnea, priapismo, midriasis). En los pacientes envenenados, puede predominar la clínica colinérgica o la adrenérgica o presentar una combinación de ambas. Las complicaciones más importantes son alteraciones cardíacas, pancreatitis y edema agudo de pulmón. En pacientes graves, es posible observar agitación psicomotriz, fasciculaciones musculares, 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 y col., 1996; Sofer y col., 1996; Mazzei de Dávila y col., 1997; Otero y col., 1998; Voronov y col., 1999; De Sousa y col., 2000; Saldarriaga y Otero, 2000; Otero y col., 2004; Borges y De Sousa, 2006; De Sousa y col., 2007; Gómez y Otero, 2007).

Histopatología

Las manifestaciones clínicas tóxicas del escorpionismo experimental están relacionadas con alteraciones de la arquitectura histológica de varios órganos y sistemas (Albornoz y col., 2009; Salomón, 2009; Laucho y López, 2011). Desde el punto de vista histopatológico se han observado cambios estructurales en distintos tejidos de ratones inyectados, con el veneno de varias especies de *Tityus* venezolanos. Por ejemplo, en páncreas, después de la administración por vía intraperitoneal de la fracción III del veneno de *T. discrepans*; se produce degranulación y vacuolización de las células acinares y aumento de la región intersticial; signos compatibles con los de la pancreatitis aguda (D'Suze y col., 1995). En ratones tratados con el veneno de *T. caripitensis*, Lugo y Urbaneja (2007) evidenciaron degranulación en parches, edema intersticial e hipertrofia de islotes de Langerhans. Posteriormente, daño severo con edema intenso y foco de células acinares con vacuolización citoplasmática, desorganización acinar, alteración de los grupos de células de ubicación predominantemente paratrabecular, con necrosis isquémica, citoplasma granular y núcleos contraídos e hiper cromáticos. Borges y col. (2004a) demostraron que el veneno de *Tityus zulianus* posee mayor poder pancreatotóxico que el de *T. discrepans*; sugiriendo mecanismos especie-específicos relacionados con la especie.

En el miocardio de ratones albinos, inyectados con el veneno de *T. caripitensis*, se observaron áreas de degeneración de fibras miocárdicas, infiltrado difuso mononuclear, celularidad intersticial aumentada, congestión vascular y hemorragia; adicionalmente, en algunos ratones se encontraron focos inflamatorios compuestos por polimorfonucleares (Fermín y Quintero, 1996; Foug y García, 1994).

Dosis subletales del veneno de *T. caripitensis*, administrado intramuscularmente en ratones NMRI ($3,75 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ de ratón, por cuatro días)

provocaron alteraciones en la estructura morfológica del parenquima renal. Las más frecuentes fueron focos hemorrágicos, marcada congestión y dilatación vascular; así como, evidente infiltrado inflamatorio fundamentalmente peritubular, constituido por linfocitos, linfoblastos, algunas células reticulares y polimorfonucleares. Los glomérulos renales mostraron diferentes grados de alteraciones en su arquitectura histológica como hipertrofia, gran celularidad, dilatación de las asas vasculares y de la cápsula de Bowman y en muchos casos, pérdida del ovillo glomerular. A nivel de los túbulos renales, se observaron cambios en los túbulos contorneados proximales y en los túbulos colectores con mayor grado de degeneración en estos últimos. En ambos se observó pérdida de la estructura de la pared con descamación de sus células hacia el lumen. En muchos casos las células contenían citoplasma turbio y pérdida del núcleo compatible con degeneración hidrópica. Las alteraciones fueron menos notables y los infiltrados menos frecuentes en la médula renal; sin embargo, la superficie apical de las células de las asas de Henle gruesas, en muchos casos, presentaron una especie de evaginación dando a las mismas aspecto de vacío (Portillo y col., 1996).

Antecedentes históricos

Actualmente, en el Laboratorio de Biología Molecular [Sección de Biomembranas, Instituto de Medicina Experimental, Facultad de Medicina, Universidad Central de Venezuela (UCV)], se estudia la diversidad de toxinas producidas por el género *Tityus*, en Venezuela; y en el Laboratorio de Toxinología [Grupo de Investigación en Toxinología Aplicada y Animales Venenosos (GITAAV), Escuela de Ciencias de la Salud, Núcleo de Anzoátegui, Universidad de Oriente], se optimiza un método para determinar la actividad biológica del veneno de varias especies de escorpiones, entre ellas: *T. nororientalis*, *T. gonzalespongai*, *T. quirogae*, *T. uquirensis*, *T. tenuicauda*, *R. laticauda* y del cháctido *Neochactas* cf. *orinocensis*; 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 y col., 2008; Hurtado y col., 2008; De Sousa y col., 2009; De Sousa-Insana y Pino, 2009; Aguilera y col., 2010; Chadee, 2010; De Sousa y col., 2010; Romero, 2010; Paz y col., 2010; De Sousa, 2011). Para otras regiones de Venezuela se ha evaluado el veneno de *T. discrepans* y el de *T. zulianus* (Cova, 2008)

Hurtado y colaboradores (2008) demostraron diferencias en el efecto tóxico del veneno de *T. nororientalis* relacionadas con la cepa de ratón utilizada. Estos autores indicaron que la DL_{50} , por vía intraperitoneal, del veneno de esta especie, fue significativamente menor en ratones C57BL/6 (DL_{50} por vía intraperitoneal, 60 minutos = 8,43 (7,94–8,91) $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ de ratón) que en NMRI (DL_{50} = 28,18 (26,65–29,90) $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ de ratón) y en BALBc (DL_{50} = 40,07 (39,81–42,24) $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ de ratón) (p = 0,000001). La relación DL_{50}/DL_{50} , entre las tres cepas, indicó que ésta es 3,34 veces menor en C57BL/6 que en NMRI y 4,75 veces más reducida que en BALBc. Por estos resultados, los autores recomendaron la cepa C57/BL6 como modelo funcional para la realización de futuros experimentos de evaluación de toxicidad aguda experimental inducida por veneno de escorpiones; en vista de su mayor susceptibilidad al veneno de *T. nororientalis* en comparación con los de las cepas NMRI y BALBc.

Albornoz y colaboradores (2009) evaluando los cambios histológicos en tejido cardiaco causados por la administración intraperitoneal de una DL_{50} del veneno de *T. nororientalis*, como dosis controlada, en ratones hembra C57BL/6, NMRI y BALBc, concluyeron que todas las cepas estudiadas fueron severamente afectadas por la acción del veneno, provocando degeneración de las fibras miocárdicas, necrosis celular y congestión vascular. Sus resultados sugieren que las cepas homocigotas (C57BL/6 y BALBc) mostraron afectación más severa. Seguidamente Salomón

(2009), con el mismo veneno de *T. nororientalis*, demostró alteraciones histológicas del parénquima renal con mayor severidad en las cepas BALBc y C57BL/6 que en NMRI. Los ratones BALBc inyectados con una DL_{50} de veneno de *T. nororientalis* presentaron cambios degenerativos generalizados, tanto en corteza como médula renal. Los corpúsculos renales presentaron ovillos capilares retraídos en algunos casos y ausentes en otros y cápsula de Bowman aumentada de tamaño con abundante material fibrilar. Tanto los túbulos contorneados como los colectores mostraron cambios degenerativos que se hicieron más evidentes en los túbulos distales, caracterizados por ruptura del epitelio y alteraciones citoplasmáticas y nucleares, tales como, fragmentación del citoplasma, vacuolización nuclear y cromatolisis. En la cepa C57BL/6 se observaron grandes cambios de la estructura normal del tejido renal, consistentes en necrosis tubular aguda y congestión glomerular. Además de la presencia de “granulaciones rojizas” en el citoplasma celular. La cepa NMRI igualmente presentó un tejido renal con alteraciones histológicas similares pero en menor grado, en la corteza renal se observaron glomérulos con ovillos capilares retraídos, amplia cápsula de Bowman, mientras que, los túbulos contorneados proximales y distales aun cuando en su mayoría conservan su estructura, mostraron signos degenerativos en núcleos y citoplasmas. Los vasos sanguíneos se apreciaron muy congestionados tanto en corteza como médula renal y en algunas áreas se encontraron focos hemorrágicos. Resultados similares, relacionadas con la sensibilidad de la cepa C57BL/6, demostraron Laucho y López (2011) sobre tejido pulmonar con el veneno de *T. nororientalis*.

Estudios demuestran que el escorpionismo, en Venezuela, es la tercera causa de muerte provocada por animales venenosos. *T. discrepans* es la especie implicada en los casos de escorpionismo ocurridos en la región centro-norte del país. La información histopatológica disponible hace énfasis sobre las alteraciones que se manifiestan en páncreas de animales experimentales; siendo escasas las que demuestran modificaciones en el corazón. Por lo anterior, evaluar las alteraciones

histológicas en tejido cardiaco, causadas por el veneno de *T. discrepans*, en cepas de ratones homocigotos C57BL/6, ayudaría en 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) y Borges y colaboradores (2010b).

Basados en las evidencias anteriores, este proyecto evaluó los cambios histológicos presentes en corazones de ratones C57BL/6 sobrevivientes al efecto tóxico del envenenamiento agudo experimental causado por el veneno de *T. discrepans*. Para tal fin, se administró en ratones hembra C57BL/6, por vía intraperitoneal y para 60 minutos de experimentación, una DL_{50} , como dosis controlada del veneno de *T. discrepans* [obtenida por el método secuencial de Dixon y Mood (1948) modificado (Sevcik, 1987)],

JUSTIFICACIÓN

El veneno de los arácnidos amerita interés médico y de investigación en nuestro país (Borges, 1996; De Sousa y col., 2000; Borges y De Sousa, 2006; De Sousa y col., 2007; Kiriakos y col., 2008; Borges y De Sousa, 2009; Borges y col., 2010a). El escorpionismo es de carácter endémico y un problema de salud pública regionalizado, ubicado fundamentalmente en la franja norte del país; donde se sitúa una alta densidad poblacional humana y, en ella, adicionalmente se localizan varias especies de *Tityus* de relevancia médica por ser los responsables de envenenamientos humanos graves asociados fundamentalmente a complicaciones del sistema cardiorrespiratorio (Borges, 1996; Machado-Allison y Rodríguez-Acosta, 1997; De Sousa y col., 2000; Borges y De Sousa, 2006; De Sousa y Borges, 2009). En gran parte de la macrorregión endémica de escorpionismo en la región centro-norte-costera se distribuye *T. discrepans* (De Sousa y col., 2000; Reyes-Lugo y Rodríguez-Acosta, 2001; Borges y De Sousa, 2006), por lo cual, el estudio de su veneno adquiere trascendencia para establecer el cuadro de toxicidad de los escorpiones de importancia médica en el país.

El desarrollo de este trabajo se justificó con base en la inexistencia de investigaciones experimentales previas sobre la evaluación de alteraciones histológicas agudas desarrolladas en tejido cardíaco de ratones C57BL/6, como consecuencia del efecto tóxico del envenenamiento agudo experimental con el veneno de *T. discrepans*. Por este motivo fue de gran interés la realización del presente proyecto, ya que constituyó la continuidad en la adquisición de un valioso cuerpo de información en el área histopatológica que permita comprender de forma integral el escorpionismo en la región centro-norte-costera venezolana.

OBJETIVOS

General

Evaluar los cambios histológicos agudos en corazones de ratones hembra, de la cepa C57BL/6, causados como respuesta de toxicidad aguda experimental a una dosis controlada del veneno de *Tityus discrepans* inyectado por vía intraperitoneal.

Específicos

1. Determinar la DL_{50} , como dosis controlada, del veneno de *T. discrepans* para la cepa de ratón C57BL/6.
2. Evaluar, en la cepa de ratón C57BL/6, los signos clínicos de toxicidad aguda experimental y su curso temporal de aparición, durante sesenta minutos, inducidos como efecto tóxico de la inyección intraperitoneal de una dosis controlada de veneno de *T. discrepans*.
3. Determinar los cambios histológicos agudos como efecto de toxicidad aguda experimental del veneno de *T. discrepans* en corazones de ratones C57BL/6.

METODOLOGÍA

Fuente del veneno de escorpión

Para la ejecución de la presente investigación se capturó la especie *T. discrepans* en la localidad de San Antonio de Los Altos y sus alrededores, municipio Los Salias, estado Miranda (10°20'N; 67°45'W; 1.220 msnm). Los escorpiones fueron mantenidos en cautiverio, con alimentación e hidratación *ad libitum*, en condiciones de bioterio, para la extracción de su veneno, en el Laboratorio de Biología Molecular de Toxinas y Receptores, Sección de Biomembranas, Instituto de Medicina Experimental, Facultad de Medicina, Universidad Central de Venezuela, Caracas, DC, Venezuela.

Extracción y purificación parcial del veneno

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

El veneno, transferido a tubos Eppendorf de 1,5 mL, fue suspendido en 1 mL de agua bidestilada y agitado en vortex (Super-Mixer®). Consecutivamente centrifugado 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.

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 (Parrilla-

Álvarez, 1999; De Sousa, 2006; De Sousa y col., 2009; De Sousa y col., 2010). Se determinó la concentración de proteínas 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 y col, 1977; Parrilla, 1999; De Sousa y col., 2009, 2010).

Designación de una DL_{50} como dosis controlada del veneno de *Tityus discrepans*

La DL_{50} del veneno de *T. discrepans*, para una hora de experimentación, fue determinada por el método secuencial de Dixon y Mood (1948) modificado por Sevcik (1987) en ratones hembra C57BL/6 (Cova, 2008) (Fig. 1). Para detalles del método consultar De Sousa y col., 2009.

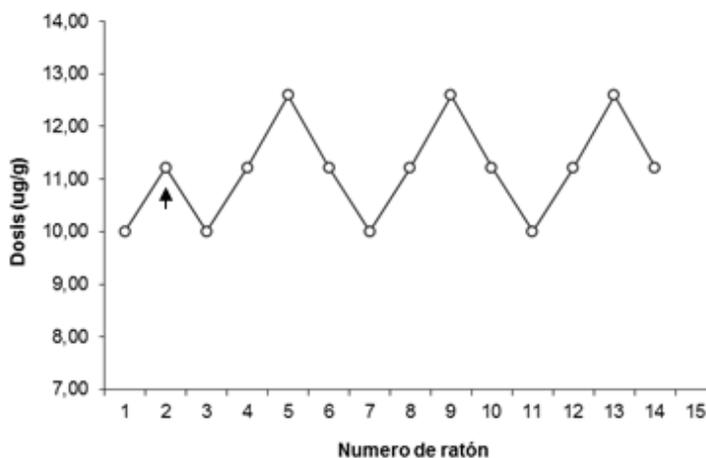


Figura 1. Determinación de la dosis letal cincuenta (DL_{50}) del veneno de *Tityus discrepans* por vip en ratones de la cepa C57BL/6.

Ratones hembra cepa C57BL/6 con pesos entre 17,58 y 22,72 g fueron inyectados vip con el veneno de *Tityus discrepans*. La flecha indica el punto de inflexión e inicio de los datos válidos para el cálculo de la DL_{50} . El resultado se presenta como la mediana y sus límites (entre paréntesis) para un 95% de confianza: $DL_{50} = 11,22 (10,61-11,91) \mu\text{g.g}^{-1}$ de ratón.

Evaluación de los signos de toxicidad aguda experimental y su curso temporal de aparición

Se eligieron al azar, del lote existente, cuatro ratones hembra de la cepa C57BL/6, adquiridas en el Bioterio del Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas (IVIC) y disponibles en el área del Laboratorio de Toxinología, hidratados y alimentados *ad libitum*, fueron inyectados por vía intraperitoneal con una DL₅₀, como dosis controlada, del veneno de *T. discrepans*. En tal sentido, se administró a cada uno de los cuatro ratones C57BL/6 una dosis de veneno de 11,22 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ de ratón.

Los signos clínicos expresados como efecto de toxicidad aguda experimental inducida por la inyección intraperitoneal de la dosis controlada del veneno de *T. discrepans*, fueron observados meticulosamente durante los 60 minutos de experimentación y tabulados cronológicamente; adicionalmente se registró el resultado final de sobrevivencia o muerte. Se utilizaron animales testigo a los cuales se administró solución fisiológica en volúmenes similares a los del grupo experimental.

Descripción de los cambios histológicos agudos en riñones de ratones C57BL/6, causados por la inyección intraperitoneal del veneno de *Tityus discrepans*

Una vez cumplido el tiempo de sesenta minutos de exposición al tratamiento, los animales sobrevivientes fueron elegidos para evaluar los cambios histológicos agudos causados por el veneno de *T. discrepans*; para ello, fueron sacrificados mediante dislocación cervical. Seguidamente se practicó incisión en la línea medio esternal y abdominal para extracción de vísceras en bloque que fueron colocadas en una solución de formalina al 10% (v/v). Similarmente se procedió con un ratón

control. Luego de fijados los órganos, durante tres días, se procedió a la separación de los corazones (envenenados y controles) para colocarlos individualmente en cajetillas de inclusión para su posterior tratamiento.

Las piezas se lavaron con agua corriente, por quince minutos, para eliminar la formalina. Posteriormente se deshidrataron con etanol, a concentraciones crecientes (v/v), iniciando al 70%, 80%, 95% y finalmente 100%. Cada paso de deshidratación duró 30 minutos. Posteriormente, el tejido se fijó con xilol (solución 50%-50% v/v de alcohol-xilol) por 15 minutos, luego dos períodos en xilol de 15 minutos cada uno. Finalmente fueron incluidos en bloques de parafina para realizar los cortes, con microtomo, de un espesor de 3 micras. Los cortes fueron colocados en portaobjetos rotulados, previamente tratados con albúmina de Mayer. Posteriormente se realizó su secado, en estufa, entre 50 y 55°C durante 20 a 30 minutos, luego se dejaron a temperatura ambiente.

Una vez enfriados se procedió a fijar y colorear los cortes con Hematoxilina-Eosina (H-E). Finalmente observados en microscopio de luz.

RESULTADOS

Curso temporal de toxicidad aguda experimental

Luego de la exposición durante sesenta minutos al tratamiento conformado por una DL₅₀, como dosis controlada, se obtuvo una frecuencia de 50% (n = 2) de sobrevivencia. En la Figura 2 se presenta el curso temporal de aparición de los signos de toxicidad aguda experimental inducida por el veneno de *T. discrepans* en ratones, hembra, de la cepa C57BL/6. La toxicidad se inició con hiperactividad seguida por taquipnea, piloerección e inicio de sialorrea. Luego distensión abdominal, evacuación pastosa y limpieza de nariz/boca. En el espectro medio de toxicidad, moderadamente grave, ocurrió secreción ocular, signo de Straub, convulsiones y disnea (caracterizada por respiración forzada abdominal), marcha atáxica y sialorrea abundante. En todos los casos, la toxicidad grave se expresó como hipotonía del tren posterior seguidamente de bradipnea/apnea y finalmente la muerte (precedida por exoftalmos y convulsiones tónico-clónicas con parálisis espástica) o sobrevivencia de los animales.

Algunos efectos relevantes de toxicidad aguda se presentan en la Figura 3 (fotografías cortesía de Cornejo, 2008): facies tóxica y piloerección, signos de estimulación muscarínica (sialorrea, secreción ocular y defecación pastosa). Otros signos observados: Signo de Straub, convulsiones e hipotonía muscular. Los signos antes de morir fueron los periodos de bradipnea/apnea (con cianosis peribucal). Los ratones que evolucionaron al *exitus letalis* presentaron apnea prolongada y finalmente convulsiones con parálisis espástica.

Los ratones sobrevivientes fueron sacrificados para evaluar los cambios histológicos causados por el efecto tóxico del veneno de *T. discrepans* sobre los riñones.

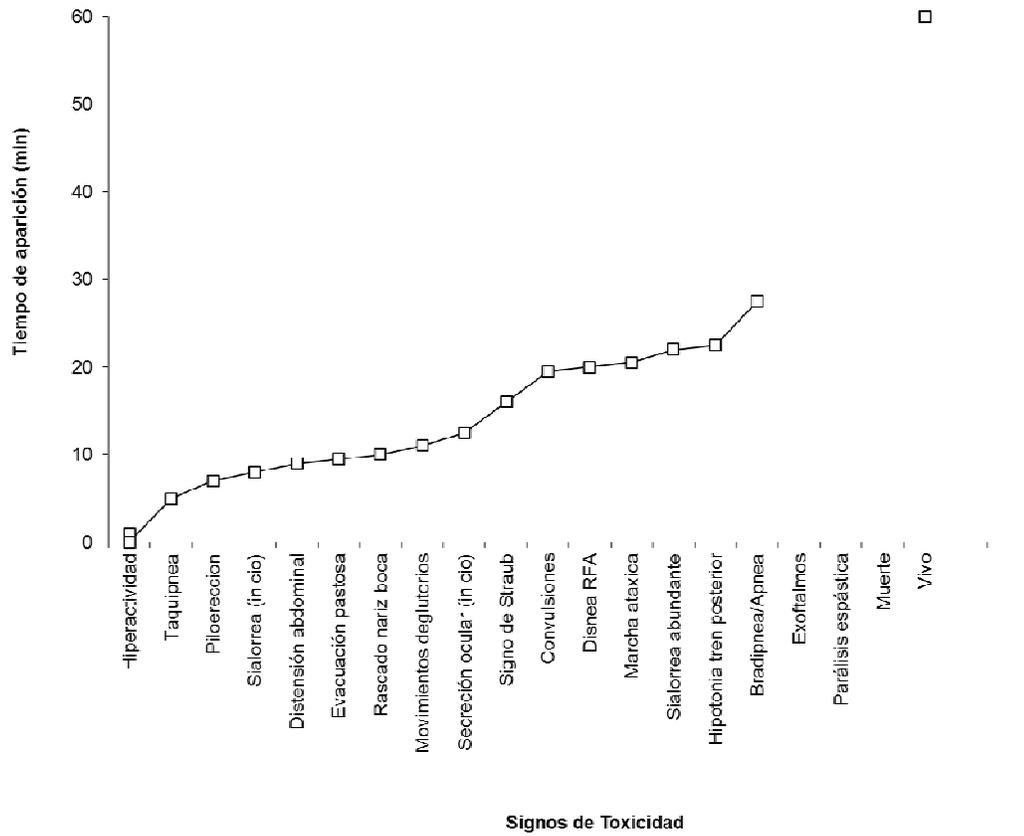


Figura 2. Curso temporal de aparición de los signos de toxicidad aguda experimental inducidos por el veneno de *Tityus discrepans* administrado por vip en ratones C57BL/6.

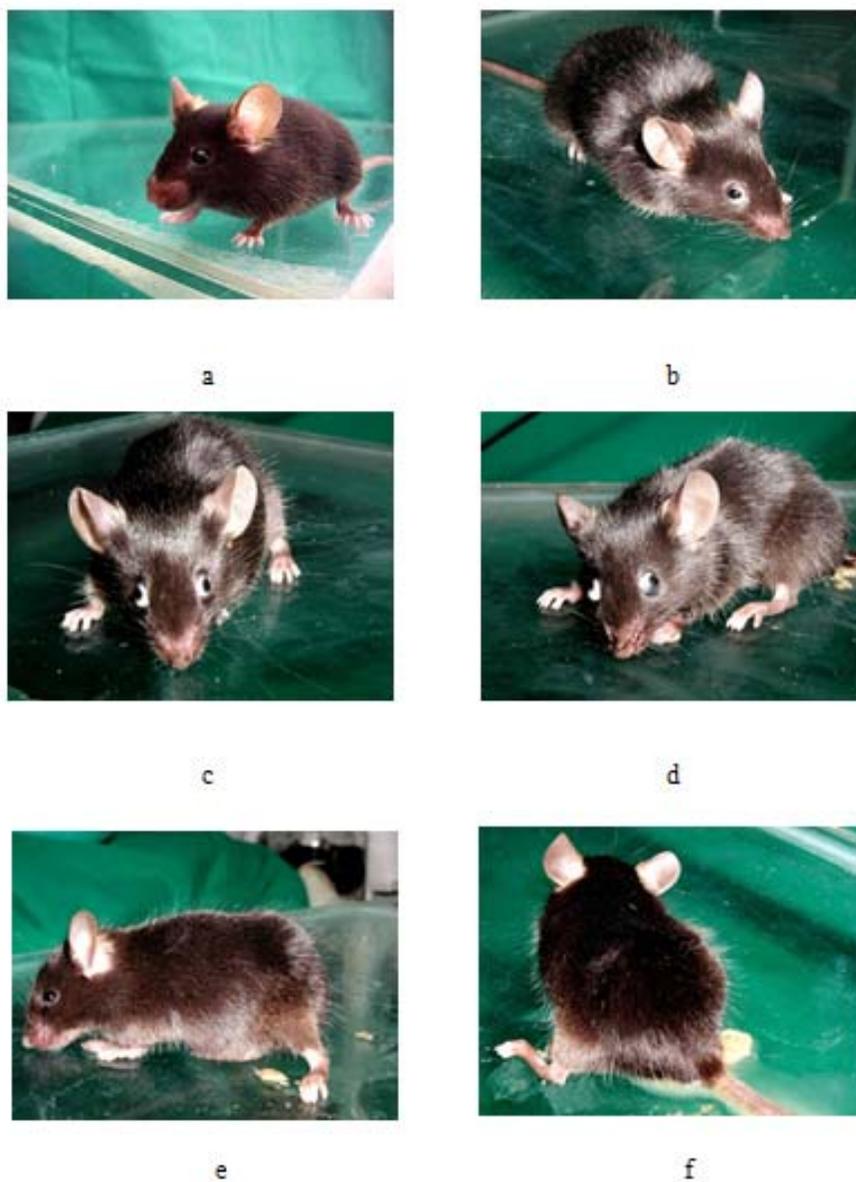


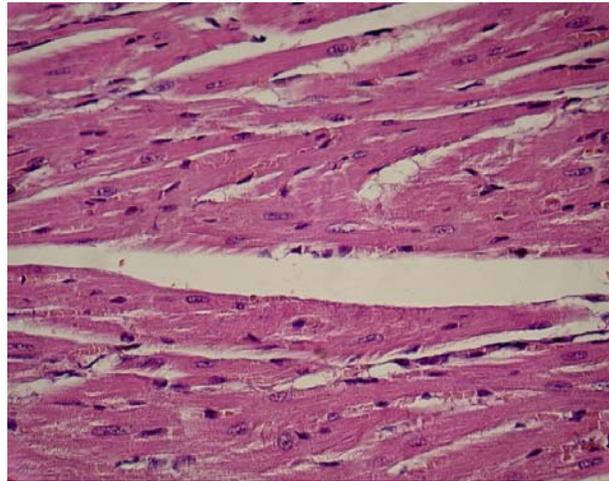
Figura 3. Comparación de un ratón C57BL/6 control con uno sobreviviente inyectado, por vip, con el veneno de *Tityus tenuicauda* mostrando algunos signos de toxicidad aguda.

Estas fotos se obtuvieron después de administrar una DL_{50} del veneno de *Tityus tenuicauda*. (a) Ratón testigo (sano). (b), (c) y (d) Secreción ocular evidente. En (c y d), nótese exoftalmo bilateral (e) Hipotonía, defecación pastosa y distensión abdominal). (f) Defecación líquida (tomado de Cornejo, 2008).

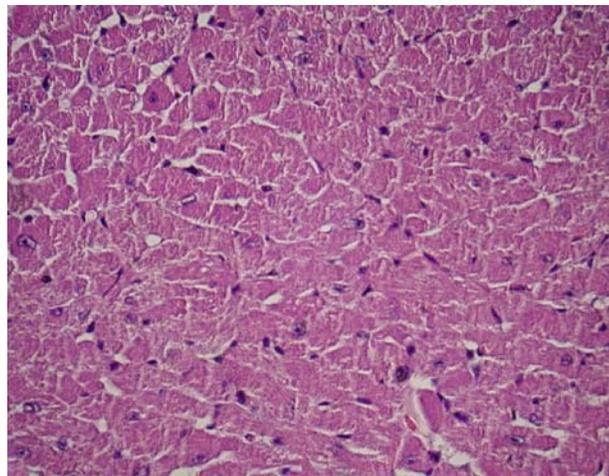
Hallazgos histológicos

Fotografías de tejido cardiaco (Fig. 4a,b) normal, de ratones C57BL/6, caracterizado por la integridad de los tejidos.

El miocardio se caracterizó por presentar fibras principalmente paralelas, de diámetro variable, con numerosos haces cruzados de fibras que se bifurcan y se conectan con fibras adyacentes para formar una red tridimensional. Entre ellos se encuentra tejido conectivo fino que contiene vasos sanguíneos. Los núcleos de las unidades celulares están ubicadas dentro de las mismas con apariencia central, rodeados de sarcoplasma claro y cromatina finamente distribuida que le confiere un color claro. El sarcoplasma está ocupado por haces filamentosos paralelos que son las miofibrillas (Fig. 4a,b).



a



b

Figura 4. Sección de tejido cardíaco correspondiente a un ratón control de la cepa C57BL/6.

(a). Corte de sección longitudinal. Integridad de las fibras cardíacas que muestran su núcleo central y sus correspondientes estriaciones. H-E, 400X.

(b). Músculo cardíaco cortado transversalmente. H-E, 400X.

Descripción histológica del tejido renal posterior a la inyección de una DL₅₀ de veneno de *Tityus discrepans* en ratones de la cepa C57/BL6

En los corazones de ratones C57BL/6 se evidenciaron cambios en la estructura microscópica del miocardio (Fig. 5 y 6). Áreas focales de tejido cardíaco fueron sustituidas por un sincitio tisular con ausencia de elementos histológicos compatibles con la normalidad del mismo. Las fibras muestran aspecto hinchado, fragmentado focalmente, sin estriaciones y núcleos mostrando alteraciones, algunos vacuolizados.

En ningunos de los casos estudiados se observó reacción inflamatoria.

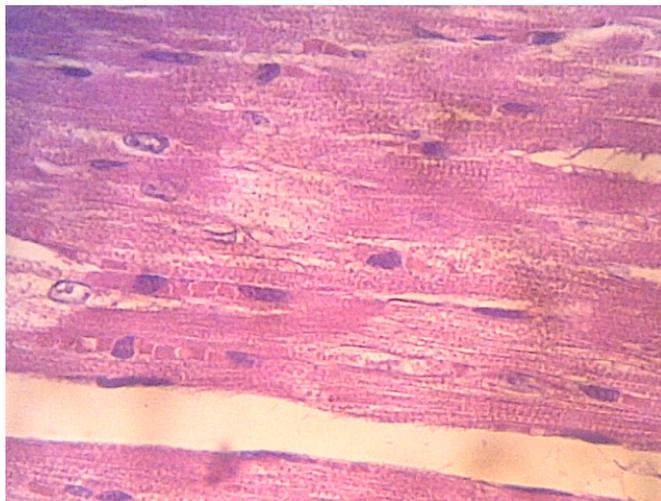


Figura 5. Sección de tejido cardíaco de ratón C57BL/6 inyectado con veneno de *Tityus discrepans*.

Fibras cardíacas, vistas longitudinalmente, de aspecto claro, edematizadas, con fragmentación focal de su contenido citoplasmático y con pérdida de sus estriaciones. H-E, 400X.

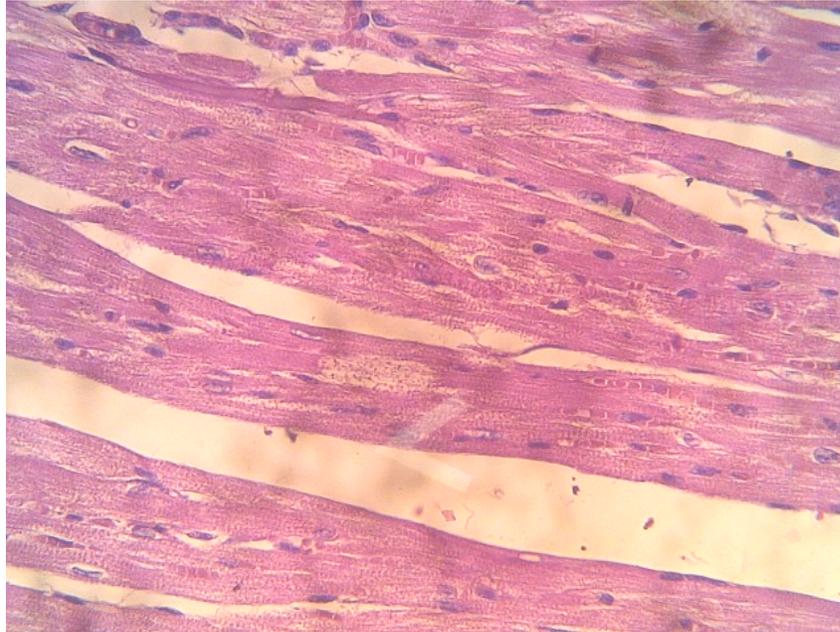


Figura 6. Sección de tejido cardíaco de ratón C57BL/6 inyectado con veneno de *Tityus discrepans*.

Perdida focal de la estriación normal de las fibras cardíacas sustituidas por un sarcoplasma fragmentado focalmente. Edema evidente. H-E, 400X.

Músculo cardíaco cortado transversalmente. H-E, 400X.

DISCUSIÓN

En este estudio los ratones C57BL/6 inyectados con una DL₅₀ del veneno de *T. zulianus* mostraron diversos cambios histopatológicos en el tejido cardiopulmonar en comparación con los controles. Las alteraciones fueron más evidentes en algunos de los componentes celulares y en la arquitectura general del tejido.

Albornoz y colaboradores (2008), en ratones C57BL/6, evidenciaron grandes cambios en la estructura microscópica del miocardio con amplias áreas de tejido cardiaco sustituidas por un sincitio tisular con ausencia total de elementos histológicos compatibles con la normalidad del mismo. Las fibras mostraron aspecto hinchado, fragmentado, sin estriaciones y núcleos manifestando grandes alteraciones, vacuolizados unos y picnóticos otros. De igual manera fueron notables las alteraciones en las paredes de las pequeñas arterias, en las mismas los autores notaron degeneración de las fibras musculares, vacuolización en las capas íntima y media, mientras su contenido sanguíneo se caracterizó por signos claros de coagulación. Concluyeron que las características morfológicas del tejido cardiaco degenerado observado fue compatible con necrosis coagulativa, donde sus células (fibras) están convertidas en masas acidófilas en las cuales no se observan núcleos pero mantienen, en apariencia, su forma básica. En tejido cardiaco no observaron reacción inflamatoria.

Marcano y Marcano (2012), evidenciaron en el tejido cardiaco de los ratones C57/BL6 inyectados con una DL₅₀ de veneno de *T. zulianus*, pérdida de estriaciones y de núcleos. El tejido se observó con vacuolas intracelulares (estructuras ópticamente vacías) y con desplazamiento de las miofibrillas, cambios compatibles con proceso de lisis celular. En tejido cardiaco no se evidenció reacción inflamatoria.

Los hallazgos de este trabajo, comparados con los causados por el veneno de *T. zulianus* (Marcano y Marcano, 2012) y el de *T. nororientalis* (Albornoz y col., 2008) indicarían que el veneno de *T. discrepans* produce cambios histológicos menos acentuados sobre tejido cardiaco (Fig. 7).

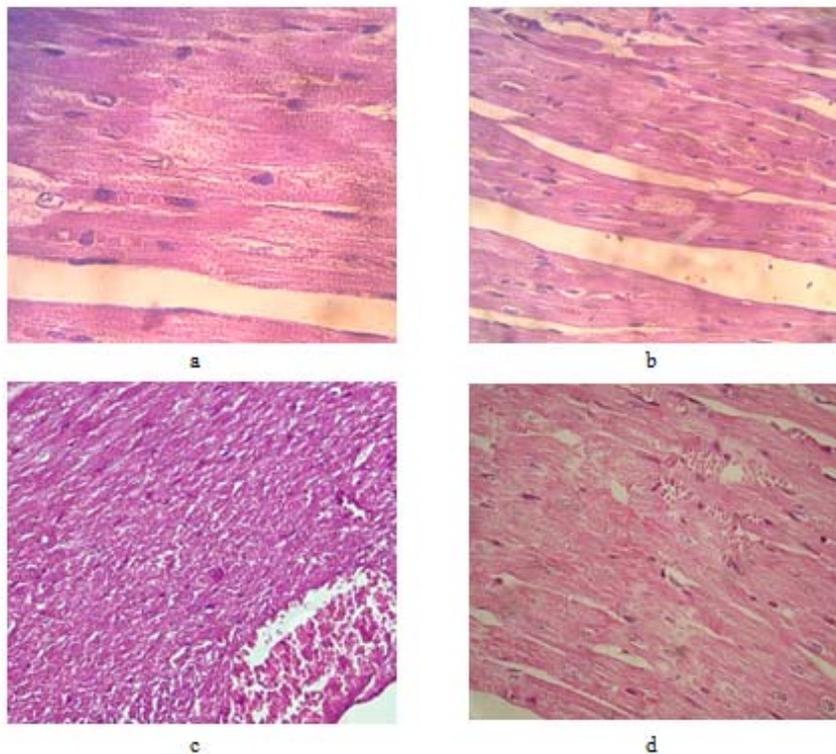


Figura 7. Tejido cardiaco de ratones C57BL/6 inyectados con una DL₅₀ del veneno de *Tityus discrepans* (este trabajo), *Tityus zulianus* (Marcano y Marcano, 2012) y *Tityus nororientalis* (Albornoz y col., 2008).

(a) y (b). *T. discrepans*. Áreas focales de tejido cardiaco fragmentado sin estriaciones y núcleos mostrando alteraciones, algunos vacuolizados. H-E, 400x. (c). *Tityus zulianus*. Se aprecia pérdida de las estriaciones y ausencia de núcleos. H-E, 40x. (d). *T. nororientalis*. Fibras cardíacas, vistas longitudinalmente, de aspecto claro, edematizadas, con fragmentación de su contenido citoplasmático y con pérdida de sus estriaciones y núcleos mostrando grandes alteraciones, vacuolizados unos y picnóticos otros. H-E, 400X.

Los resultados hallados en este trabajo confirmarían los hallazgos de Borges y colaboradores (2004a), quienes demostraron que el veneno de *T. zulianus* posee mayor poder pancreatotóxico que el de *T. discrepans*; sugiriendo mecanismos especie-específicos. En este caso, se establecerían diferencias en toxicidad histológica entre los venenos de *T. discrepans* y *T. nororientalis* sugiriendo tal mecanismo especie-específico. Los resultados observados indicarían que el tejido cardiaco de los ratones C57/BL6 inyectados con una DL₅₀ de veneno de *T. zulianus* o *T. nororientalis*, mostraron mayor afectación degenerativa que los encontrados en este trabajo con el veneno de *T. discrepans*.

D'Suze y colaboradores (2004) demostraron que el veneno de *T. discrepans*, inyectado por vía subcutánea, produjo alteraciones inmunohistoquímicas detectadas en la matriz extracelular de piel, hígado, páncreas, intestino, bazo y pulmón de carneros. Las alteraciones se caracterizaron por infiltración celular (neutrófilos, monocitos y macrófagos). En el sitio de inyección evidenciaron infiltración masiva neutrofílica alrededor de los nervios y vasos sanguíneos; especialmente en el lumen de las venas y vénulas localizaron agregación de masas de aspecto fibrinoide con signos de vasculitis. Los autores relacionaron estos cambios con la liberación de citoquinas; principalmente las interleucinas 6, 8 y 10. Otros autores, similarmente han asociado los cambios histopatológicos, causados por el veneno de otras especies de escorpiones, con la liberación, en parte, de varios mediadores inflamatorios tipo autacoides como prostaglandinas (E2), leucotrienos (B4) y los tromboxanos (A2).

De manera característica, el presente trabajo reconfirma que el síndrome del envenenamiento por escorpiones del género *Tityus* en vertebrados es especie-específico (Borges y col., 2004b, 2006a, Cova 2008). Se justifica la utilidad de la cepa de ratones C57BL/6 como excelente modelo funcional de bioensayo para evaluar los venenos de escorpiones venezolanos; incorporando nuevos elementos de evaluación histopatológica a los componentes clínicos (acompañados del curso

temporal de toxicidad aguda) y de ensayos de letalidad al conjunto de evidencias moleculares, inmunológicas, bioquímicas y fisiológicas ya disponibles que indican que los venenos de estos artrópodos contienen toxinas complejas debido a variaciones estructurales y/o funcionales previamente sugeridas por Cova (2008), Da Camara y col. (2008) y Hurtado y col. (2008). Por lo pronto, estos resultados vienen a reforzar los criterios que contribuyen 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) y por Borges y colaboradores (2010b) para una comprensión integral del escorpionismo en el país.

CONCLUSIONES

1. El veneno de *T. discrepans* a una DL_{50} , produjo alteraciones histológicas en el tejido cardiaco de los ratones de experimentación.
2. Las manifestaciones colinérgicas predominaron en el cuadro neurotóxico agudo.
3. Se evidenciaron áreas focales de tejido cardiaco fragmentado sin estriaciones y núcleos mostrando alteraciones, algunos vacuolizados.
4. En los ratones utilizados como control no se evidenció ninguna alteración histopatológica..

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 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.
- Aguilera, R.; Curupe, L. y Granados I. 2010. Variabilidad geográfica e intersexual del veneno de *Tityus nororientalis* (Scorpiones: Buthidae) en ratones C57BL/6. Trabajo de Pregrado, Departamento de Ciencias Fisiológicas, Universidad de Oriente, Barcelona.
- 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* (Caracas), 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 β -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.

- Borges, A.; Bermingham, E.; Herrera, N., Alfonzo, M. y Sanjur, O. 2010a. Molecular systematics on the neotropical scorpion genus *Tityus* (Buthidae): The historical biogeography and venom antigenic diversity of toxic Venezuelan species. *Toxicon*, 55: 436-454.
- Borges, A.; Rojas-Runjaic, F.; Diez, N.; Faks, J.; Op den Camp, H. y De Sousa, L. 2010b. Envenomation by the scorpion *Tityus breweri* in the Guayana Shield, Southeast Venezuela: Report of a case, reactivity towards antivenom and proposal for a toxinological partitioning of the Venezuelan scorpion fauna. *Wilderness and Environmental Medicine*, 21: 282-290.
- Chadee, R. 2010. Evaluación de la actividad biológica del veneno de ejemplares machos y hembras de *Tityus nororientalis* (Scorpiones, Buthidae) en el modelo múrido C57BL/6. Trabajo de Pregrado, Departamento de Bioanálisis, Universidad de Oriente, Cumaná.
- 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.
- Coronado, L.; Alvarado, M. y Dutari, J. 2008. Características clínicas y epidemiológicas del alacranismo. Periodo 2002-2007. Hospital del Niño. Panamá. *Pediátrica de Panamá*, 37: 36-46.
- 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.
- D'Suze, G.; Sevcik, C. y Ramos, M. 1995. Presence of curarizing polypeptides and a pancreatitis-inducing fraction without muscarinic effects in the venom of the Venezuelan scorpion *Tityus discrepans* (Karsch). *Toxicon*, 33: 333-345.
- 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.
- 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 toxicológica. Trabajo de Ascenso a Profesor Asociado, Departamento de Ciencias Fisiológicas, Universidad de Oriente, Barcelona.
- De Sousa, L. 2011. Mapa de toxicidad del veneno de algunos escorpiones (Buthidae, Chactidae) del nororiente venezolano. Trabajo de Ascenso a Profesor Titular. 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 escorpionico: 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.; Tillerio, 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. 2007. Scorpionism due to *Tityus neoespartanus* (Scorpiones, Buthidae) in Margarita Island, northeastern Venezuela. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 40: 681-685.
- De Sousa, L.; 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, 2009.
- De Sousa, L.; Borges, A.; Vásquez-Suárez, A.; Op den Camp, H.; Chadee-Burgos, R.; Romero-Bellorín, M.; De Sousa-Insana, L. y Pino-García, O. 2010. Differences in venom toxicity and antigenicity between females and males of the scorpion *Tityus nororientalis* (Buthidae). *Journal of Venom Research*, 1: 61-70.
- De Sousa-Insana, L. y Pino, O. 2009. Estudio comparativo de la actividad biológica del veneno de ejemplares hembras y machos de *Tityus nororientalis* (Scorpiones, Buthidae) en el modelo murino C57BL/6. Trabajo de Grado para optar al Título de Bachiller en Ciencias, Cátedra de Metodología de la Investigación, Colegio Juan Jacobo Rousseau, Puerto La Cruz.
- Dehesa-Dávila, M. 1989. Epidemiological characteristics of scorpion sting in Leon, Guanajuato, Mexico. *Toxicon*, 27: 281-285,
- 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.
- Fermín, A. y Quintero, D. 1996. Alteraciones histopatológicas causadas por el veneno de escorpión *Tityus caripitensis* (Buthidae) sobre pulmón de ratones albinos. Trabajo de Pregrado, Departamento de Ciencias Fisiológicas, Universidad de Oriente, Ciudad Bolívar.
- Fet, V. y Lowe, G. Family Buthidae C., Koch, 1837. In Fet, V.; Sissom, W.; Lowe, G. & Braunwalder, M. (Eds). 2000. *Catalog of the Scorpions of the World (1758-1998)*. New York Entomological Society, New York, pp. 54-286.
- Foung, M. y García, Z. 1994. Alteraciones histopatológicas por emponzoñamiento escorpiónico en miocardio de ratones. Trabajo de Pregrado, Departamento de Ciencias Fisiológicas, Universidad de Oriente, Ciudad Bolívar.
- Garcia, M.; Gao, Ying-Duo; Mcmanus, O. and Kaczorowski, G. 2001. Potassium channels: from scorpion venoms to high-resolution structure. *Toxicon*, 39: 739-748.
- 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 toxicológicos, clínicos y epidemiológicos del envenenamiento producido por el escorpión *Tityus fuhrmanni* Kraepelin. *MEDUNAB*, 5: 159-165.
- Gómez, J.; Quintana, J.; Arbeláez, P.; Fernández, J.; Silva, J.; Barona, J.; Gutierrez, J.; Otero, R. 2010. Picaduras por escorpión *Tityus asthenes* en Mutatá, Colombia: Aspectos epidemiológicos, clínicos y toxicológicos. *Biomédica*, 30: 126-139.
- González-Sponga, M. 1996a. *Guía para identificar escorpiones de Venezuela* Cuaderno Iagoven. 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.

- 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, Ciudad Bolívar.
- Inceoglu, B.; Lango, J.; Wu, J.; Hawkins, P.; Southern, J., Hammock, B. 2001. Isolation and characterization of a novel type of neurotoxic peptide from the venom of the South African scorpion *Parabuthus transvaalicus* (Buthidae). *European Journal of Biochemistry*, 268(20): 5407-5413.
- 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,
- Laucho, J. y López, R. 2011. Cambios histológicos agudos causados por el veneno de *Tityus nororientalis* (Scorpiones, Buthidae) en pulmones de ratones NMRI, BALBc y C57BL/6. Trabajo de Pregrado, Departamento de Ciencias Fisiológicas, Universidad de Oriente, Barcelona.
- 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 Venomous Animals Toxins*, 2: 121-134.
- Lugo, G. y Urbaneja, X. 2007. Efectos histopatológicos agudos del veneno de escorpión (Buthidae: *Tityus caripitensis*) en páncreas de ratones. Trabajo de Pregrado, Departamento de Ciencias Fisiológicas, Universidad de Oriente, Ciudad Bolívar.

- Machado-Allison, A. y Rodríguez-Acosta, A. 1997. Animales venenosos y ponzoñosos de Venezuela. Caracas: Editora LITOPAR, CDCH, Universidad Central de Venezuela; p 45-111.
- 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.
- Matos, M. 2010. Evaluación del perfil eco-epidemiológico y clínico del escorpionismo y ofidismo en el estado Sucre, Venezuela. Periodo 2002-2006. Universidad de Oriente, Núcleo de Anzoátegui Trabajo de Grado para optar al título *Magister Scientiarum* en Salud Pública, Mención Epidemiología. Postgrado en Salud Pública, Centro de Estudios de Postgrado, 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.
- Morocoima, A.; De Sousa, L.; Herrera, L.; Rojas, L.; Villalobos, M.; Chique, J.; Barroyeta, R. y Bónoli, S. 2011. Simpatría de triatomíneos (Reduviidae) y

escorpiones (Buthidae) en *Cocos nucifera* y *Acrocomia aculeata* (Aracaceae) de Anzoátegui, Venezuela. *Boletín de Malariología y Salud Ambiental*, 51(2): 187-198.

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. 2009. Accidentes por artrópodos venenosos. Escorpiones y escorpionismo en Colombia. *Biomédica*, 29: 33-34.

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 Scientiarum*, Centro de Estudios Avanzados, Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas, Caracas.

Paz, N.; Rodríguez, M. y Santodomingo, A. 2011. Perfil de actividad biológica *in vivo* del veneno de *Neochactas* cf. *orinocensis* (Scorpiones, Chactidae). Trabajo de Pregrado, Departamento de Ciencias Fisiológicas, Universidad de Oriente, Barcelona.

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.

Portillo, A.; Sojo, I. y Zerpa, J. 1996. Alteraciones histopatológicas causadas por el veneno del escorpión *Tityus caripitensis* (Familia: Buthidae) sobre hígado y riñón de ratón. Trabajo de Pregrado, Departamento de Ciencias Fisiológicas, Universidad de Oriente, Ciudad Bolívar.

- Possani, L.; Becerril, B.; Delepiere, 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.
- Reyes-Lugo, M. y Rodríguez-Acosta, A. 2001. Scorpion envenoming by *Tityus discrepans* Pocock, 1897 in the northern coastal region of Venezuela. *Revista Científica FCV-LUZ*, 11: 412-417.
- Rodríguez-Torres, G.; Navarrete, L. y Rodríguez-Acosta, A. 2007. Sobre el hallazgo del alacrán *Rhopalurus laticauda* (Thorell, 1876) en una inusitada área geográfica. *Archivos Venezolanos de Medicina Tropical*, 5: 70-82.
- Rojas-Runjaic, F. y Becerra-R, A. 2008. Diversidad y distribución de la escorpiofauna del estado Zulia, Venezuela. *Boletín del Centro de Investigaciones Biológicas*, 42: 461-477.
- Rojas-Runjaic, F. y De Sousa, L. 2007. Catálogo de los escorpiones de Venezuela (Arachnida: Escorpiones). *Boletín de la Sociedad Entomológica Aragonesa*, 40: 281-307.
- Romero, M. 2010. Elaboración del mapa clínico-epidemiológico y toxicológico del escorpionismo en el estado Sucre, Venezuela. Trabajo de *Magíster Scientiarium*, Postgrado en Biología Aplicada, Universidad de Oriente, Cumaná.
- Saldarriaga, M. y Otero, R. 2000. Los Escorpiones: aspectos ecológicos, biológicos y toxicológicos. *Med-UNAB*, 3: 17-23.
- Salomón, L. 2009. Cambios histopatológicos agudos causados por el veneno de *Tityus nororientalis* (Escorpiones, Buthidae) en riñones de ratones NMRI, BALBc y C57BL/6. Trabajo de Pregrado, Departamento de Ciencias Fisiológicas, Universidad de Oriente, Barcelona.
- 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.

- Shulov, A. y Zlotkin, E. 1969. A simple device for collecting scorpion venom. *Toxicon*, 2: 169-170.
- 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 Escorpíoes. 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.
- Wudayagiri, R.; Inceoglu, B.; Herrmann, R.; Derbel, M.; Choudary, P. and Hammock, B. 2001. Isolation and characterization of a novel lepidopteran-selective toxin from the venom of South Indian red scorpion, *Mesobuthus tamulus*. *BMC Biochemistry*. 2: 16-23.

HOJA DE METADATOS PARA TESIS Y TRABAJOS DE ASCENSO – 1/5

Título	CAMBIOS HISTOLÓGICOS AGUDOS CAUSADOS POR EL VENENO DE <i>Tityus discrepans</i> (SCORPIONES, BUTHIDAE) EN TEJIDO CARDIACO DE RATONES C57BL/6
Subtítulo	

Autor(es)

Apellidos y Nombres	Código CVLAC / e-mail	
Rojas González, Yleana de Los Ángeles	CVLAC	17.264.549
	e-mail	yarg_85@hotmail.com
	e-mail	
	CVLAC	
	e-mail	
	e-mail	

Palabras o frases claves:

<i>Tityus discrepans</i>
Toxinología
Veneno
Toxicidad aguda
Histopatología
Tejido cardiaco
Ratones C57BL/6

HOJA DE METADATOS PARA TESIS Y TRABAJOS DE ASCENSO – 2/5

Líneas y sublíneas de investigación:

Área	Subárea
Escuela de Ciencias de la Salud	Medicina
	Farmacología
	Toxinología

Resumen (abstract):

Se capturaron ejemplares de *Tityus discrepans* en la localidad de San Antonio de Los Altos y sus alrededores, municipio Los Salias, estado Miranda. El veneno de los escorpiones se obtuvo mediante estimulación manual del telson. La DL₅₀ del veneno, para una hora de experimentación, fue determinada por el método secuencial de Dixon y Mood. Se escogió al azar, cuatro ratones hembra de la cepa C57BL/6. Se administró por vía intraperitoneal una DL₅₀ de veneno de *T. discrepans*, equivalente a 11,22 µg.g⁻¹ de ratón. Luego fueron evaluados durante sesenta minutos, obteniendo una frecuencia de sobrevivencia de 50% (n = 2). La toxicidad se inició con hiperactividad seguida por signo de Straub, marcha atáxica, piloerección, secreción ocular e inicio de sialorrea. En el espectro medio de toxicidad, moderadamente grave, ocurrió evacuación pastosa, convulsiones (tónico/clónicas), exoftalmos y disnea. En los casos de toxicidad grave se expresó como hipotonía del tren posterior seguida de bradipnea/apnea y finalmente la muerte o sobrevivencia de los animales. Los ratones sobrevivientes fueron sacrificados para evaluar los cambios histológicos en el tejido cardiopulmonar causados por efecto tóxico del veneno. En el tejido cardíaco de los ratones C57/BL6, inyectados con una DL₅₀ de veneno de *T. discrepans*, se evidenciaron cambios en la estructura microscópica del miocardio caracterizadas por áreas focales de tejido cardíaco sustituidas por un sincitio tisular con ausencia de elementos histológicos compatibles con la normalidad del mismo. Las fibras mostraron aspecto hinchado, fragmentado focalmente, sin estriaciones y algunos núcleos vacuolizados. No se observó reacción inflamatoria.

HOJA DE METADATOS PARA TESIS Y TRABAJOS DE ASCENSO – 3/5

Contribuidores:

Apellidos y Nombres	ROL / Código CVLAC / e-mail									
Miguel Flautes	ROL	CA		AS		TU		JU	X	
	CVLAC	5.485.193								
	e-mail	drmiguelflautes@hotmail.com								
Mercedes Matos Pérez	ROL	CA		AS		TU		JU	X	
	CVLAC	8.032.140								
	e-mail	mmatosb@cantv.net								
Adolfo Borges-Strauss		CA		AS		TU	X	JU		
	CVLAC	5.302.194								
	e-mail	borges.adolfo@gmail.com								
Leonardo De Sousa		CA		AS		TU	X	JU		
	CVLAC	14.214.493								
	e-mail	leonardodesousa@yahoo.com								

Fecha de discusión y aprobación:

Año	Mes	Día
2013	01	18

Lenguaje: SPA

HOJA DE METADATOS PARA TESIS Y TRABAJOS DE ASCENSO – 4/5

Archivo(s):

Nombre de archivo	Tipo MIME
tityus.zulianus.cardiopulmonar.doc	Application/Word

Caracteres en los nombres de los archivos: A B C D E F G H I J K L M N O P Q R
S T U V W X Y Z. a b c d e f g h i j k l m n o p q r s t u v w x y z. 0 1 2 3 4 5 6 7 8 9.

Alcance:

Espacial: Escuela de Ciencias de la Salud

Temporal: _____

Título o Grado asociado con el trabajo:

Médico Cirujano

Nivel Asociado con el Trabajo: Pre Grado

Área de Estudio:

Departamento de Ciencias Fisiológicas, Farmacología, Toxinología

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

Universidad de Oriente, Núcleo de Anzoátegui

HOJA DE METADATOS PARA TESIS Y TRABAJOS DE ASCENSO – 5/5

Derechos:

De acuerdo al Artículo 44 del Reglamento de Trabajos de Grado: “Los Trabajos de Grado son de exclusiva propiedad de la Universidad y solo podrán ser utilizados a otros fines con el consentimiento del Núcleo respectivo, quien lo participará al Consejo Universitario”

Yleana de Los Ángeles Rojas González

AUTOR

Adolfo Borges-

Strauss

TUTOR

Leonardo De

Sousa

TUTOR

Miguel Flautes

JURADO

Mercedes Matos

Pérez

JURADO

Profa. Rosibel Villegas

Coordinadora de la Comisión de Trabajos de Grado

POR LA SUBCOMISIÓN DE TESIS