



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

CUANTIFICACIÓN DE VOLÚMENES, CANTIDAD DE PROTEÍNAS Y
EVALUACIÓN DE LA TOXICIDAD DE LOS VENENOS DE *Tityus nororientalis* Y
Rhopalurus laticauda (SCORPIONES, BUTHIDAE), DEL NORORIENTE DE
VENEZUELA
(Modalidad: Tesis de Grado)

CARYGNTH JOSÉ CÓRDOVA AGUIAR
LOURDES JOSEFINA PINTO VALOR

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

CUMANÁ, 2012



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

ACTA N° 849

Hoy, 09 de Noviembre de 2012, la suscrita Coordinadora de la Comisión de Trabajos de Grado del Departamento de Bioanálisis, Escuela de Ciencias ha dado su aprobación para que se realice la discusión del Trabajo de Grado titulado: **“CUANTIFICACIÓN DE VOLÚMENES, CANTIDAD DE PROTEÍNAS Y EVALUACIÓN DE LA TOXICIDAD DE LOS VENENOS DE *Tityus nororientalis* Y *Rhopalurus laticauda* (SCORPIONES, BUTHIDAE), DEL NORORIENTE DE VENEZUELA”**, (modalidad: Tesis de Grado), presentado por las bachilleres: **CORDOVA AGUIAR, CARYGNTH JOSÉ Y PINTO VALOR, LOURDES JOSEFINA**, con Cédulas de Identidad N° 11 377 111 y 11 634 042 respectivamente.

Cumplidos con los requisitos que rigen la materia autorizo a los miembros del Jurado Examinador para que procedan a la discusión del mismo, interroguen al postulante y finalmente emitan su veredicto.

Por la Comisión de Trabajos de Grado del Departamento de Bioanálisis, Escuela de Ciencias.

La Coordinadora:

Por el Jurado Examinador:

El Asesor:



Trátese sólo un asunto en cada oficio



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

VEREDICTO

Nosotros: *OLGA BIANCHI, PABLO CORNEJO Y LEONARDO DE SOUSA*

en nuestro carácter de Jurado Examinador, ratificados por el Consejo de la Escuela de Ciencias, a recomendación de la Comisión de Trabajos de Grado del Departamento de Bioanálisis para emitir juicio sobre el Trabajo de Grado titulado: **“CUANTIFICACIÓN DE VOLÚMENES, CANTIDAD DE PROTEÍNAS Y EVALUACIÓN DE LA TOXICIDAD DE LOS VENENOS DE *Tityus nororientalis* Y *Rhopalurus laticauda* (SCORPIONES, BUTHIDAE), DEL NORORIENTE DE VENEZUELA”**, presentado las bachilleres: **CORDOVA AGUIAR, CARYGNTH JOSÉ Y PINTO VALOR, LOURDES JOSEFINA**, con las Cédulas de Identidad N° **11 377 111** y **11 634 042**, respectivamente, en la modalidad: Tesis de Grado, según lo establecido en el **Acta N° 849** y como requisito parcial para optar al título de Licenciado en Bioanálisis, decidimos que dicho trabajo ha sido: *APROBADO*.

En fe de lo anterior se levanta la presente Acta en Cumaná, a los nueve días del mes de noviembre de dos mil doce.

Asesor(es):

Jurado Principal:

Jurado Principal:



Trátase sólo un asunto en cada oficio

CUANTIFICACIÓN DE VOLÚMENES, CANTIDAD DE PROTEÍNAS Y
EVALUACIÓN DE LA TOXICIDAD DE LOS VENENOS DE *Tityus nororientalis*
Y *Rhopalurus laticauda* (SCORPIONES, BUTHIDAE), DEL NORORIENTE DE
VENEZUELA

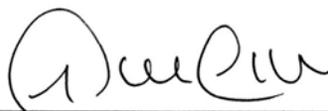
APROBADO POR:



Prof. Leonardo De Sousa
Asesor



Prof. Olga Mª Bianchi
Jurado principal



Prof. Pablo Cornejo
Jurado Principal

INDICE

DEDICATORIA	I
DEDICATORIA	II
AGRADECIMIENTOS	III
LISTA DE TABLAS	IV
LISTA DE FIGURAS	VI
RESUMEN	VII
INTRODUCCIÓN	1
METODOLOGÍA	6
Fuente de los venenos de escorpión	6
Fuente de los animales de experimentación	6
Extracción y purificación parcial del veneno	7
Determinación de la concentración de proteínas	7
Evaluación de la DL ₅₀ y de los signos de toxicidad aguda experimental	9
Análisis estadísticos	10
RESULTADOS	11
Productividad del veneno de <i>Tityus nororientalis</i> y <i>Rhopalurus laticauda</i>	11
DL ₅₀ del veneno de <i>Tityus nororientalis</i> y <i>Rhopalurus laticauda</i>	11
Curso de toxicidad aguda experimental inducida por el veneno de <i>Tityus nororientalis</i> y <i>Rhopalurus laticauda</i>	19
DISCUSIÓN	30
CONCLUSIONES	35
BIBLIOGRAFÍA	36
HOJA DE METADATOS	45

DEDICATORIA

A

Dios, Padre Todopoderoso, por haber dispuesto todo a su justo y debido tiempo, sin ti siempre a mi lado no lo hubiera logrado.

Mis padres Carmen Emilia e Ygnacio Rafael, por brindarme todo su apoyo en estos años, alentándome a continuar y no desistir de esta meta, gracias porque nunca perdieron la fe y la esperanza de ver llegar este día.

Mi esposo Carlos César, por brindarme su amor, su cariño, su estímulo y su apoyo constante, su comprensión y paciente espera, este logro es también tuyo, gracias por ser tan consecuente en esta lucha.

Mi hija Mariana Cecilia, para que este logro sea un ejemplo a seguir en su vida académica que apenas empieza, con constancia y dedicación todo se puede.

Mis hermanos Charles José y Henry José, porque nunca dudaron que conseguiría este triunfo.

Mis queridas amigas, compañeras y hermanas: Rosa Indira, Anaelys y Lourdes al final todas pudimos lograrlo. Demostramos que los sueños si se vuelven realidad.

Mis demás familiares y amigos que siempre tuvieron una palabra de apoyo durante mis estudios, eternamente gracias.

Carygnth José Córdova Aguiar

DEDICATORIA

A

Dios Todopoderoso, por haberme permitido llegar a este punto, solo tú, señor sabes el sacrificio que he pasado, gracias por guiarme con tu luz divina y no desmayar.

Mis padres, Miguel y Carmen, por darme el ser.

Mi mamá "catira" (†), mi vieja querida por tu constante amor inexplicable por mi superación personal sin ningún interés material, aunque ya no estas en cuerpo presente este logro es por ti y para ti, se que donde quiera que estés, celebrarás mi triunfo QEPD.

Mi tía Doraida

, mujer ejemplar, quien me ha dado todo lo que soy como persona, mis valores, principios, perseverancia y empeño, todo ello con gran dosis de amor sin pedir nada a cambio. TE QUIERO.

Mis hijos Enrique y Gustavo, mis dos tesoros quienes con su sonrisa y alegría me demuestran cada día que vale la pena vivir. Cuando me dicen mamá a demás de satisfacción me recuerdan el compromiso que tengo con ellos de avanzar y darles lo mejor. Es posible que algún día por alguna casualidad de la vida conozcan de estas palabras y quieran seguir mis pasos y verme como un ejemplo a seguir. LOS AMO.

Mi esposo Lino Enrique, mi vida, no tengo palabras para expresar mi infinito agradecimiento por todo el apoyo incondicional. Siempre has sido ejemplo a seguir, por tal motivo me siento comprometida a superarme cada día más para que tu y nuestros hijos se sientan orgullosos. Ustedes son el motor que impulsa mi existir. TE AMO.

Mis hermanos Carlos Gerardo, Juan Carlos y Carlos Jesús, por su apoyo incondicional.

Carlos Cordero (†), gracias por confiar en mi, aunque Dios te llevó de nuestro lado antes de haber realizado mi triunfo, donde quiera que estés hago suyo este logro. QEPD.

Mi suegra Viannelly, modelo de tenacidad y lucha, quien siempre me ha apoyado a lo largo del transitar hacia uno de mis triunfos. MIL GRACIAS.

Mis inseparables amigas, Rosa Indira, Anaelys del Carmen y Carygnth José, gracias por su inmensa amistad. LAS QUIERO.

Todos mis familiares, sobrinos, cuñados y amigos sientan suyo este triunfo.

Lourdes Josefina Pinto Valor

AGRADECIMIENTOS

A

Nuestro querido Profesor Leonardo De Sousa por permitirnos compartir parte de su fabuloso y sorprendente mundo venenoso.

Especial gratitud a la Licenciada Rosa Indira Chadee Burgos, por su solidaridad y especialmente por facilitarnos el camino para la culminación de este proyecto con éxito.

El 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.

Los valiosos consejos y enseñanzas de nuestros amigos y profesores Mercedes Matos y Aleikar Vásquez-Suárez.

El Laboratorio de Toxinología, Grupo de Investigación en Toxinología Aplicada, Escuela de Ciencias de la Salud, Universidad de Oriente, Núcleo de Anzoátegui por permitirnos 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.

Carygnth José Córdova Aguiar
Lourdes Josefina Pinto Valor

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Comparación de los datos de productividad del veneno de <i>Tityus nororientalis</i> y <i>Rhopalurus laticauda</i> (Buthidae), del nororiente venezolano, obtenido por estimulación eléctrica	11
Tabla 2. Datos para el cálculo de la Dosis Letal (DL ₅₀) del veneno de ejemplares hembra de <i>Tityus nororientalis</i> en ratones C57BL/6, administrado por vía intraperitoneal, para 60 minutos de observación.....	13
Tabla 3. Datos para el cálculo de la Dosis Letal (DL ₅₀) del veneno de ejemplares hembras de <i>Rhopalurus laticauda</i> en ratones C57BL/6, administrado por vía intraperitoneal, para 60 minutos de observación	14
Tabla 4. Frecuencia de muerte y secuencia de dosis administradas, por vía intraperitoneal, del veneno de ejemplares hembra de <i>Tityus nororientalis</i> en el modelo mûrido C57BL/6.....	15
Tabla 5. Frecuencia de muerte y secuencia de dosis administradas, por vía intraperitoneal, del veneno de ejemplares hembras de <i>Rhopalurus laticauda</i> en el modelo mûrido C57BL/6.....	16
Tabla 6. Frecuencia de manifestaciones clínicas inducidas por toxicidad aguda del veneno de <i>Tityus nororientalis</i> administrado por vía intraperitoneal en ratones C57BL/6.....	20
Tabla 7. Frecuencia de manifestaciones clínicas inducidas por toxicidad aguda del veneno de <i>Rhopalurus laticauda</i> administrado por vía intraperitoneal en ratones C57BL/6.....	21
Tabla 8. Comparación de frecuencia e intensidad de manifestaciones clínicas inducidas por toxicidad aguda experimental con los venenos de <i>Tityus nororientalis</i> y <i>Rhopalurus laticauda</i> en ratones C57BL/6	23
Tabla 9. Diferencias fundamentales en frecuencia e intensidad de las manifestaciones clínicas inducidas por toxicidad aguda experimental inducidas por los venenos de <i>Tityus nororientalis</i> y <i>Rhopalurus laticauda</i> en ratones C57BL/6.....	24

Tabla 10. Comparación de las DL ₅₀ , por vía intraperitoneal, de los venenos de varias especies de Buthidae del nororiente venezolano en el modelo múrido C57BL/6 ...	32
Tabla 11. Comparación de las DL ₅₀ del veneno de ejemplares de <i>Tityus nororientalis</i> provenientes de varias localidades del nororiente de Venezuela.....	34

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Extracción del veneno, de ejemplares de <i>Tityus tenuicauda</i> , por estimulación eléctrica del telson	8
Figura 2. Determinación de la DL ₅₀ , por vip en ratones C57BL/6, del veneno de ejemplares hembra de <i>Tityus nororientalis</i> capturadas en San Juan de Las Galdonas, municipio Arismendi, estado Sucre	17
Figura 3. Determinación de la DL ₅₀ , por vip en ratones C57BL/6, del veneno de ejemplares hembras de <i>Rhopalurus laticauda</i> capturados en Querecual, municipio Bolívar, estado Anzoátegui.....	18
Figura 4. Comparación de las DL ₅₀ del veneno de <i>Tityus nororientalis</i> y <i>Rhopalurus laticauda</i> , por vip en ratones C57BL/6.....	18
Figura 5. Comparación del curso temporal de toxicidad aguda experimental entre ratones fallecidos y sobrevivientes sometidos al veneno de <i>Tityus nororientalis</i>	26
Figura 6. Comparación del curso temporal de toxicidad aguda experimental entre ratones fallecidos y sobrevivientes sometidos al veneno de <i>Rhopalurus laticauda</i>	27
Figura 7. Comparación del curso temporal de toxicidad aguda experimental de ratones C57BL/6 inyectados con el veneno de <i>Tityus nororientalis</i> y el de <i>Rhopalurus laticauda</i>	28
Figura 8. Ratón C57BL/6 sobreviviente inyectado, por vip, con el veneno de <i>Tityus nororientalis</i> mostrando algunos signos de toxicidad aguda.....	29

RESUMEN

Se evaluaron parámetros de producción y de toxicidad diferencial entre los venenos de *Tityus nororientalis* y *Rhopalurus laticauda* (Scorpiones, Buthidae), en el modelo múrido, en términos de producción de veneno, títulos letales y curso temporal del envenenamiento agudo. 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 (DL_{50}), 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 *Tityus nororientalis*, por estimulación eléctrica, produce en promedio para peso, volumen y concentración, 1,64 mg; 5,82 μl y 0,28 $\text{mg}\cdot\mu\text{l}^{-1}$; valores significativamente mayores al de *Rhopalurus laticauda* (en promedio 0,24 mg; 2,07 μl y 0,12 $\text{mg}\cdot\mu\text{l}^{-1}$). La potencia (en $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) del veneno de *Tityus nororientalis* fue significativamente superior [7,94 (7,51-8,43)] al de *Rhopalurus laticauda* [112,20 (106,09-119,04); $p = 0,000001$]. El cuadro clínico indicó neurotoxicidad aguda de mayor potencia con el veneno de *Tityus nororientalis*; con signos predominantemente colinérgicos (con algunas manifestaciones adrenérgicas y centrales), similares a aquellos observados en humanos envenenados. Aunque parcialmente comparable en algunos elementos de su naturaleza neurotóxica, el curso temporal de toxicidad entre los dos venenos fue de magnitud y cinética diferencial, fundamentalmente, en la fase de toxicidad grave (sialorrea abundante, disnea bradipnea-apnea, exoftalmos y parálisis espástica, exclusivo para el veneno de *Tityus nororientalis*); tales signos aparecieron de manera significativamente más temprana en el caso de los animales inyectados con el veneno de *Tityus nororientalis*. Los resultados obtenidos indicarían variaciones del veneno en estas dos especies que podrían estar relacionadas con su expresión proteómica y que, adicionalmente, apuntaría a confirmar, en el caso de *Tityus nororientalis*, la alta complejidad del veneno de este grupo taxonómico con expresión en diversidad toxinológica dentro de la misma especie.

INTRODUCCIÓN

El orden Scorpiones, 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 dos taxa de importancia médica en el continente Americano (Borges, 1996; De Sousa *et al.*, 2000; Borges y De Sousa, 2006). Algunas especies de *Centruroides* (México, América Central, sureste de Estados Unidos de América y parte del norte de Suramérica) 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 pública, fundamentalmente, en la población pediátrica de 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), Panamá (Coronado *et al.*, 2008) y Venezuela (Borges, 1996; De Sousa *et al.*, 2000; Borges y De Sousa, 2006; De Sousa *et al.*, 2007a; De Sousa y Borges, 2009).

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* (Buthidae), comprobadamente de trascendencia médica en el país (Mota *et al.*, 1994; Porras *et al.*, 1994; De Sousa *et al.*, 1995; 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; De Sousa *et al.*, 2007; Mejias *et al.*, 2007; De Sousa *et al.*, 2008a; De Sousa *et al.*, 2008b; Borges *et al.*, 2010a) con 74 especies, es el género más diverso desde el punto de taxonómico (Rojas-Runjaic y De Sousa, 2007; Rojas-Runjaic y Becerra, 2008; Borges *et al.*, 2010b; De Sousa, 2011) y toxicológico (Borges

et al., 2008; Borges *et al.*, 2010b); representando más de un tercio del total de todos los *Tityus* descritos (unos 180) desde Costa Rica hasta el norte de Argentina y algunas islas del Caribe (Borges y De Sousa, 2006).

Rhopalurus laticauda (Buthidae) es la especie de mayor distribución geográfica en Venezuela, desde el nivel del mar hasta los 556 metros de altitud (González-Sponga, 1984; González-Sponga, 1996a; Manzanilla *et al.*, 2002; Manzanilla y De Sousa, 2003); siendo el escorpión típico del bosque seco tropical y del bosque muy seco tropical (Manzanilla y De Sousa, 2003; Morocoima *et al.*, 2011) y el que ostenta el veneno de menor toxicidad (Ortiz, 1985; De Sousa *et al.*, 2000; Rodríguez-Torres *et al.*, 2007) en comparación con algunas de las especies del género *Tityus* (De Sousa, 2011). González-Sponga (1984) mencionó que esta especie, dada su amplia distribución en el territorio nacional, en apariencia, sería el responsable de la mayoría de los incidentes con escorpiones, particularmente en: Maracaibo y sus alrededores, (estado Zulia); Ciudad Bolívar, San Félix y Puerto Ordaz (estado Bolívar) y Barcelona-Puerto La Cruz (estado Anzoátegui).

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, (d) 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). Hace 6 años, 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 (De Sousa, 2011).

En gran parte de la macroregión nororiental habita *Tityus nororientalis* (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 Los Ríos, 2006; De Sousa, 2011). 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); sin embargo, investigaciones en curso demuestran, al presente, que es la especie con el mayor rango de ordenación territorial en el nororiente venezolano. Los resultados actuales indican 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) y en Macuro (municipio Valdez), Península de Paria, estado Sucre (Romero, 2010).

La composición del veneno de estos artrópodos es compleja y variable (Illanes, 1981; Borges *et al.*, 1990); un único veneno puede contener más de un centenar de 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). Los componentes tóxicos, presentes en los venenos de algunos bñtidos, 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; 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 autonómico, produciendo los signos y síntomas clásicos observados en el escorpionismo: humano, veterinario y experimental (Saldarriaga y Otero, 2000; Mazzei de Dávila *et al.*, 2002; Borges *et al.*, 2004a; Borges y De Sousa, 2006; De Sousa *et al.*, 2007a).

El envenenamiento escorpiónico es un complejo sindromático, principalmente, asociado a disfunción en los sistemas cardiorrespiratorio, nervioso y, del sistema neuroendocrino y de autacoides (De Sousa *et al.*, 1995; Sofer *et al.*, 1996; Mazzei de Dávila *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; 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 (Borges, 1996; Borges y De Sousa, 2006).

De acuerdo a los efectos clínicos inducidos por el veneno escorpiónico en humanos, se pueden distinguir los que causan sólo efecto local y transitorio (dolor, edema, parestesias) y las especies cuyo veneno puede producir efectos sistémicos. En tal sentido, el incidente con *Rhopalurus laticauda* corresponde al primer grupo, mientras que los *Tityus* serían responsables de los efectos sistémicos que se manifiestan como signos y síntomas adrenérgicos y colinérgicos en forma simultánea (diaforesis, palidez, taquipnea o bradipnea, hipertensión o hipotensión y sialorrea, entre otras) (De Sousa *et al.*, 1995;

Mazzei de Dávila *et al.*, 1997; Otero *et al.*, 1998; Mazzei de Dávila *et al.*, 2002; Otero *et al.*, 2004; Borges y De Sousa, 2006; De Sousa *et al.*, 2007a; De Sousa y Borges, 2009; Borges *et al.*, 2010a).

En el Laboratorio de Toxinología del Grupo de Investigación en Toxinología Aplicada y Animales Venenosos, Escuela de Ciencias de la Salud, Núcleo de Anzoátegui, Universidad de Oriente, 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* 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 *et al.*, 2008; Hurtado *et al.*, 2008; De Sousa *et al.*, 2009; De Sousa-Insana y Pino, 2009; Aguilera *et al.*, 2010; Chadee, 2010; Romero, 2010; De Sousa *et al.*, 2010; De Sousa, 2011; Paz *et al.*, 2011).

Se evaluó la toxicidad de una nueva población de *Tityus nororientalis* localizada en la población de San Juan de Las Galdonas, municipio Arismendi, estado Sucre y se exploró la posibilidad de hallar toxicidad diferencial entre el veneno de esta especie de *Tityus* y el de *Rhopalurus laticauda*. Para tal fin, se cuantificaron los parámetros de producción de veneno entre ambas especies y se determinaron en ratones hembra de la cepa C57BL/6, por vía intraperitoneal y para 60 minutos de experimentación, las DL₅₀ del veneno de ambas especies por el método secuencial de Dixon y Mood (1948), modificado (Sevcik, 1987), y se compararon entre ambos venenos las manifestaciones clínicas y el curso temporal de aparición de los signos inducidos como efecto tóxico del envenenamiento agudo experimental en esta cepa de ratón.

METODOLOGÍA

Fuente de los venenos de escorpión

Para la ejecución de la presente investigación, se capturaron las especies *Tityus nororientalis* y *Rhopalurus laticauda*, en dos localidades de su ámbito de distribución geográfica, ubicadas, para la primera, en San Juan de Las Galdonas (10°42'19''N, 62°51'14''W; 13 m de altitud; GPS Garmin®) municipio Arismendi, estado Sucre, y para la segunda, en Querecual (09°56'46''N, 64°29'17''W; 80 m de altitud; GPS Garmin®) municipio Bolívar, estado Anzoátegui. Durante el día, ambos fueron localizados bajo rocas, troncos, en el interior de la corteza, parcialmente desprendida de los árboles, en el interior de troncos en proceso de descomposición y para el caso específico de *Tityus nororientalis*, en la base de plantas de café (*Coffea arabica*) o de cacao (*Theobroma cacao*). Durante la noche, se utilizaron lámparas portátiles de luz ultravioleta. Posteriormente, fueron trasladados al Laboratorio de Toxinología del Grupo de Investigación en Toxinología Aplicada y Animales Venenosos, 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, 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 e hidratación y alimentación *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 DL_{50} 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 (Sevcik, 1987; De Sousa *et al.*, 2009; De Sousa *et al.*, 2010).

Extracción y purificación parcial del veneno

Los escorpiones fueron ordeñados por estimulación eléctrica, a razón de 5 pulsos rectangulares de 60 V/pulso, durante 100 milisegundos (ms), 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, Núcleo de Bolívar, Universidad de Oriente (Quiroga *et al.*, 1982; Parrilla-Álvarez, 1999). El veneno eyectado de cada especie, fue recogido de forma separada en tubos capilares de 100 μ l 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. Se realizaron diluciones del veneno, cuando fue necesario 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; De Sousa *et al.*, 2010).

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



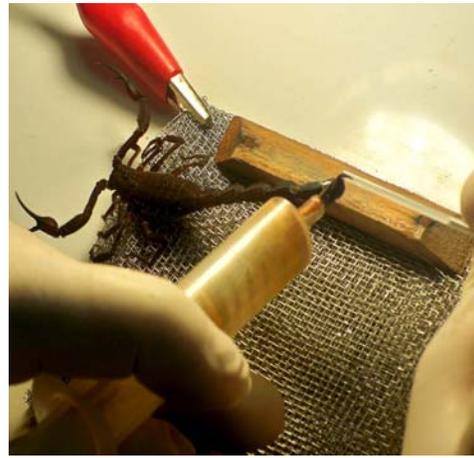
a



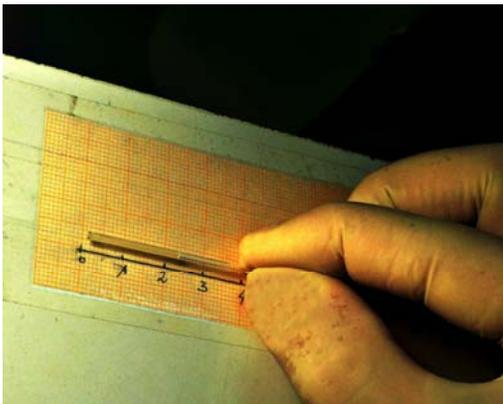
b



c



d



e



f

Figura 1. Extracción del veneno, de ejemplares de *Tityus tenuicauda*, por estimulación eléctrica del telson. (a, b) Manipulación de los ejemplares. (c, d) Electrodo estimulador fijado en la región intersegmental, entre el quinto segmento del metasoma y el telson. (d) Veneno eyectado desde el acúleo, recogido en tubos capilares. (e) Cuantificación de volumen de veneno. (f) Traslado del veneno a tubos Eppendorf de 1,5 ml (Fotografías cortesía de Laura Ramírez y María Victoria Talavera) (Tomado de De Sousa, 2011).

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 hembras y machos, se almacenaron a -20°C hasta el momento de su uso para evaluar su actividad biológica en el modelo múrido C57BL/6, el resto fue liofilizado (liofilizador Labconco[®]) y almacenado a -20°C (De Sousa, 2006; De Sousa *et al.*, 2009; De Sousa *et al.*, 2010).

Evaluación de la DL_{50} y de los signos de toxicidad aguda experimental

Las DL_{50} del veneno de ejemplares de *Rhopalurus laticauda* y *Tityus nororientalis*, para una hora de experimentación, se determinó por el método secuencial de Dixon y Mood (1948), modificado por Sevcik (1987). Cada 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. Se estableció el siguiente esquema de trabajo para la administración de cada veneno: en el primer ratón C57BL/6, por vip, se utilizó una dosis inicial de: $Anti\text{-log } X_1 = 1$ (10 $\mu\text{g.g}^{-1}$ de ratón) [en el caso de *Rhopalurus laticauda*, $Anti\text{-log } X_1 = 2$ (100 $\mu\text{g.g}^{-1}$ de ratón)]; donde el *Anti-log* es el antilogaritmo. Si este primer animal responde con la muerte, el segundo ratón recibirá una dosis $X_2 = Anti\text{-log Dosis}(X_1) - d$, donde d es un factor constante cuyo valor, en este caso, fue 0,05. Si el primer animal sobrevive, entonces, el segundo recibirá una dosis $X_2 = Anti\text{-log Dosis}(X_1) + d$. El procedimiento continuará y la dosis del siguiente animal será: $X_n = Anti\text{-log } X_m - d$, si el animal m muere con la dosis X_m ; o bien: $X_n = Anti\text{-log } X_m + d$, si el ratón m sobrevive con la dosis X_m .

El experimento se detuvo al obtener una secuencia de cuatro ciclos: $\dagger 0 \dagger 0 \dagger 0 \dagger 0 \dagger \otimes$, ó $0 \dagger 0 \dagger 0 \dagger 0 \dagger 0 \otimes$; donde \dagger indica muerte, 0 supervivencia y \otimes la dosis que será administrada al siguiente animal (punto final).

Los signos clínicos expresados como efecto de toxicidad aguda experimental inducida por la inyección intraperitoneal del veneno de *Tityus nororientalis* y *Rhopalurus laticauda*, 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 por dislocación cervical. Se utilizó en cada grupo experimental un animal testigo al cual se administró solución fisiológica en volumen similar al de los grupos experimentales (De Sousa, 2006; De Sousa *et al.*, 2009; De Sousa *et al.*, 2010).

Análisis estadísticos

Parte de los resultados experimentales se procesaron por métodos estadísticos no paramétricos o de libre distribución: (a) se calcularon las medianas de los datos válidos a partir del punto de inflexión, según Hodges y Lehmann y sus límites de confianza (entre paréntesis) al 95% de certeza para las DL_{50} y para el tiempo de aparición de los signos de toxicidad aguda experimental y (b) las diferencias entre las medianas fueron evaluadas por la prueba de análisis de varianza de Kruskal-Wallis, con un nivel de significación $p < 0,05$ (De Sousa, 2006; De Sousa *et al.*, 2009; De Sousa *et al.*, 2010). Para el procesamiento de los datos por métodos estadísticos no paramétricos, se utilizó el programa V-8.2, desarrollado por el Dr. Carlos Sevcik, Laboratorio de Neurofarmacología Celular, Centro de Biofísica y Bioquímica, IVIC, estado Miranda, Venezuela.

Para comparar los parámetros de productividad, entre los venenos, se calcularon las diferencias de proporciones con muestreo independiente (valor de Z; método estadístico paramétrico) con un nivel de significación $p < 0,05$. Programa PRIMER que acompaña el libro Primer of Biostatistics (Glantz, 2002).

Se evaluó el Índice de Variabilidad de las DL_{50} mediante la siguiente fórmula: Índice de Variabilidad = (Límite superior – Límite inferior)/Mediana de la $DL_{50} \times 100$.

RESULTADOS

Productividad del veneno de *Tityus nororientalis* y *Rhopalurus laticauda*

Los dieciséis ejemplares (♀♀/♂♂) de *Tityus nororientalis*, por estimulación eléctrica, produjeron 26,20 mg de proteínas en un volumen total de 93,10 µl. Cada escorpión en promedio, para peso y volumen, originó 1,64 mg en 5,82 µl; resultando una concentración de 0,28 mg.µl⁻¹ (‡). *Rhopalurus laticauda*, produjo en promedio 0,24 mg por ejemplar en 2,07 µl, proporcionando una concentración de 0,12 mg.µl⁻¹. Al respecto, *Tityus nororientalis* posee mayor productividad de veneno, en términos de cantidad y concentración de proteínas, que *Rhopalurus laticauda* ($Z = 2,23$; $p < 0,025$) (Tabla 1).

Tabla 1. Comparación de los datos de productividad del veneno de *Tityus nororientalis* y *Rhopalurus laticauda* (Buthidae), del nororiente venezolano, obtenido por estimulación eléctrica.

Especie	n	Volumen (µl)	µl/escorpión	Total proteínas (mg)	mg/escorpión	Concentración por escorpión (mg/µl)
<i>T. nororientalis</i>	16 †	93,10	5,82	26,20	1,64 £	0,28 Δ
<i>R. laticauda</i>	110 †	227,28	2,07	26,12	0,24 £	0,12 Δ

n: Número de ejemplares ordeñados; †: ♀♀♂♂; £: $p < 0,025$ Δ: $p < 0,025$

DL₅₀ del veneno de *Tityus nororientalis* y *Rhopalurus laticauda*

En las tablas 2 y 3 se presentan los datos necesarios para el cálculo de las DL₅₀ del veneno de *Tityus nororientalis* y *Rhopalurus laticauda*, en ratones hembra, C57BL/6, observados durante 60 minutos.

‡ Once hembras, por estimulación eléctrica, produjeron 12,32 mg de proteínas en 35,20 µl de veneno. Cada hembra, en promedio para masa y volumen, originó 1,12 mg en 3,02 µl; resultando una concentración de 0,37 mg.µl⁻¹. Para los cinco machos, 13,88 mg en 57,90 µl; en promedio, 2,77 mg y 11,58 µl; proporcionando concentración de 0,24 mg.µl⁻¹. Al respecto las hembras producen menor cantidad de proteínas y volumen que los machos ($Z = 2,42$; $p < 0,001$); sin embargo, el cociente concentración fue significativamente mayor en el veneno de las hembras que en los machos ($Z = 2,42$; $p < 0,001$).

El total de ratones C57BL/6 para evaluar el veneno de *Tityus nororientalis* fue $n = 15$ [corrida + siguiente animal (punto final)] (Tabla 2) y para el de *Rhopalurus laticauda* $n = 13$ [corrida + siguiente animal (punto final)] (Tabla 3). El punto de inflexión (fenómeno muerte no-muerte o no-muerte muerte) se ubicó en R_3 para el veneno de *Tityus nororientalis* (Tabla 2) y en R_2 para el veneno de *Rhopalurus laticauda* (Tabla 3).

La corrida válida para calcular la DL_{50} , del veneno de *Tityus nororientalis*, fue desde R_3 hasta $R_{14} + R_{15}$ (punto final) [$n = 13$]; y, para evaluar los signos de toxicidad aguda experimental desde R_3 hasta R_{14} [$n = 12$] (Tabla 2). Para la DL_{50} de *Rhopalurus laticauda*, desde R_2 hasta $R_{12} + R_{13}$ (punto final) [$n = 12$]; y los de toxicidad aguda desde R_2 hasta R_{12} [$n = 11$] (Tabla 3). La cantidad de veneno utilizado, de *Tityus nororientalis*, en la experiencia, fue de 2.651,10 μg (2,70 mg) (Tabla 2) y para *Rhopalurus laticauda* de 18.981,58 μg (19,00 mg) (Tabla 3).

Para cada veneno se utilizó un ratón control, el cual no desarrolló ninguna manifestación clínica de toxicidad posterior a la inyección respectivamente de 20 y 180 μl de solución salina al 0,9% (m/v).

La frecuencia de muerte causada por la administración de los venenos, en la corrida válida, de *Tityus nororientalis* y de *Rhopalurus laticauda* se presenta en las tablas 4 y 5. Para el de *Tityus nororientalis* (Tabla 4), la mayor frecuencia de muerte ocurrió con la dosis de 7,94 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ($n = 3$; 50,00%) y 8,91 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ de ratón ($n = 3$; 50,00%). Con la dosis de 7,08 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ de ratón no ocurrió mortalidad. Con el veneno de *Rhopalurus laticauda* (Tabla 5), la mayor mortalidad ($n = 3$; 60,00%) ocurrió con la dosis de 125,89 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ de ratón; seguida, en menor frecuencia con 112,20 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ($n = 1$, 20,00%) y 100,00 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ($n = 1$; 20,00%). Cuando se administró la dosis de 89,13 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ no ocurrió *exitus letalis*.

Tabla 2. Datos para el cálculo de la Dosis Letal (DL₅₀) del veneno de ejemplares hembra de *Tityus nororientalis* en ratones C57BL/6, administrado por vía intraperitoneal, para 60 minutos de observación.

Ratón (R _n)	Peso (g)	Dosis (Anti-log)	Dosis (µg/g ⁻¹)	Dosis Total (µg)	Volumen (µl)	Muerte (minutos)
Corrida no válida						
R ₁	23,23	1,00	10,00	232,30	28,60	†
R ₂	23,33	0,95	8,91	207,90	25,60	†
Sub-total				440,20		
Corrida válida						
R ₃	22,68	0,90	7,94	180,10	22,20	0
R ₄	27,60	0,95	8,91	245,90	30,30	†: 27
R ₅	26,50	0,90	7,94	210,40	25,90	0
R ₆	25,90	0,95	8,91	230,70	28,40	†: 30
R ₇	19,30	0,90	7,94	153,20	18,80	†: 24
R ₈	24,90	0,85	7,08	176,30	21,70	0
R ₉	24,60	0,90	7,94	195,30	24,00	†: 43
R ₁₀	22,90	0,85	7,08	162,10	19,90	0
R ₁₁	26,60	0,90	7,94	211,20	26,00	0
R ₁₂	17,40	0,95	8,91	155,00	19,10	†: 24
R ₁₃	20,30	0,90	7,94	161,20	19,80	†: 49
R ₁₄	18,30	0,85	7,08	129,50	15,90	0
Sub-total				2 210,90		
Total				2 651,10		
Siguiete Animal						
R ₁₅		0,90	7,94			⊗

Ratones válidos: R₃ → R₁₄ + R₁₅; †: Ratón con *exitus letales*; ⊗: Punto final del experimento

Tabla 3. Datos para el cálculo de la Dosis Letal (DL₅₀) del veneno de ejemplares hembras de *Rhopalurus laticauda* en ratones C57BL/6, administrado por vía intraperitoneal, para 60 minutos de observación.

Ratón (R _n)	Peso (g)	Dosis (Anti-log)	Dosis (µg/g ⁻¹)	Dosis Total (µg)	Volumen (µl)	Muerte (minutos)
Corrida no válida						
R ₁	15,99	2,00	100,00	1 599,00	148,40	0
			Sub-total	1 599,00		
Corrida válida						
R ₂	14,55	2,05	112,20	1 632,51	161,47	†: 55
R ₃	15,24	2,00	100,00	1 524,00	150,74	†: 52
R ₄	13,38	1,95	89,13	1 192,56	117,96	0
R ₅	13,83	2,00	100,00	1 383,00	136,80	0
R ₆	12,04	2,05	112,20	1 351,91	133,52	0
R ₇	14,64	2,10	125,89	1 843,03	295,35	†: 58
R ₈	13,12	2,05	112,20	1 472,09	235,91	0
R ₉	15,61	2,10	125,89	1 965,14	552,00	†: 39
R ₁₀	15,18	2,05	112,20	1 703,22	478,43	0
R ₁₁	14,64	2,10	125,89	1 843,03	295,35	†: 49
R ₁₂	13,12	2,05	112,20	1 472,09	235,91	0
			Sub-total	17 382,58		
			Total	18 981,58		
Siguiete Animal						
R ₁₃		2,10	125,89			⊗

Ratones válidos: R₂ → R₁₂ + R₁₃; †: Ratón con *exitus letales*; ⊗: Punto final del experimento

Tabla 4. 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.

Ratón (R _n)	Anti-log Dosis ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ de ratón)			
	0,85 (7,08 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	0,90 (7,94 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	0,95 (8,91 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	1,00 (10,00 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)
Corrida no válida				
R ₁				†: 28
R ₂			†: 32	
Corrida válida				
R ₃		0		
R ₄			†: 27	
R ₅		0		
R ₆			†: 30	
R ₇		†: 24		
R ₈	0			
R ₉		†: 43		
R ₁₀	0			
R ₁₁		0		
R ₁₂			†: 24	
R ₁₃		†: 49		
R ₁₄	0			
Siguiete Animal				
R ₁₅		⊗		
Frecuencia de Muerte [†] Corrida Válida n = 6; 100%	0; 0%	3; 50%	3; 50%	

†: Tiempo de muerte; 0: Sobrevivencia; ⊗: Punto final del experimento

Tabla 5. Frecuencia de muerte y secuencia de dosis administradas, por vía intraperitoneal, del veneno de ejemplares hembras de *Rhopalurus laticauda* en el modelo mrido C57BL/6.

Ratón (R _n)	Anti-log Dosis (µg.g ⁻¹ de ratón)			
	1,95 (89,13 µg.g ⁻¹)	2,00 (100,00 µg.g ⁻¹)	2,05 (112,20 µg.g ⁻¹)	2,10 (125,89 µg.g ⁻¹)
Corrida no válida				
R ₁	0			
Corrida válida				
R ₂			†: 55	
R ₃		†: 52		
R ₄	0			
R ₅		0		
R ₆			0	
R ₇				†: 58
R ₈			0	
R ₉				†: 39
R ₁₀			0	
R ₁₁				†: 49
R ₁₂			0	
Siguiente Animal				
R ₁₃				⊗
Frecuencia de Muerte [†]				
Corrida	0; 0%	1; 20,00%	1; 20,00%	3; 60,00%
Válida				
n = 5; 100%				

†: Tiempo de muerte; 0: Sobrevivencia; ⊗: Punto final del experimento

Las DL_{50} , para 60 minutos de observación, del veneno de *Tityus nororientalis* y *Rhopalurus laticauda*, administrados por vía intraperitoneal, en ratones C57BL/6, se presentan en las figuras 2 y 3. 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 *Tityus nororientalis* la DL_{50} fue de 7,94 (7,51–8,43) $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ de ratón y para *Rhopalurus laticauda* de 112,20 (106,09–119,04) $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ de ratón; en ambas el índice de variabilidad fue de 11,60%.

En la figura 4, se comparan las DL_{50} , calculadas para los venenos de *Tityus nororientalis* y *Rhopalurus laticauda*. Los resultados demostraron que *Tityus nororientalis* posee un veneno significativamente más potente ($p = 0,000001$) que el de *Rhopalurus laticauda*.

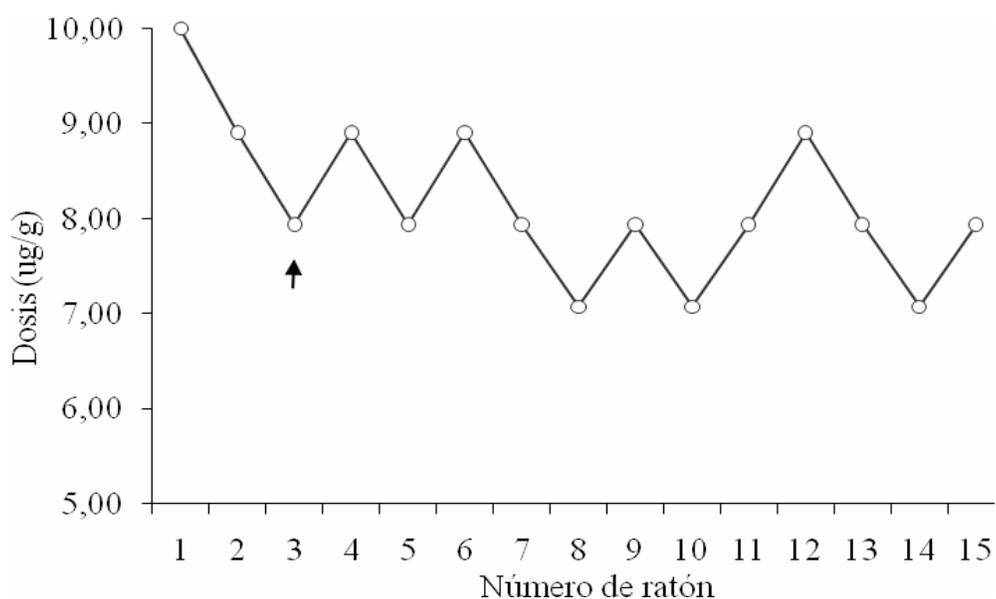


Figura 2. Determinación de la DL_{50} , por vip en ratones C57BL/6, del veneno de ejemplares hembra de *Tityus nororientalis* capturadas en San Juan de Las Galdonas, municipio Arismendi, estado Sucre. La flecha indica el punto de inflexión e inicio de los datos válidos para el cálculo de la DL_{50} . El resultado se expresa como la mediana y sus límites para un 95,00% de confianza (entre paréntesis): DL_{50} , vip, 60 minutos = 7,94 (7,51–8,43) $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ de ratón. IV = 11,60%.

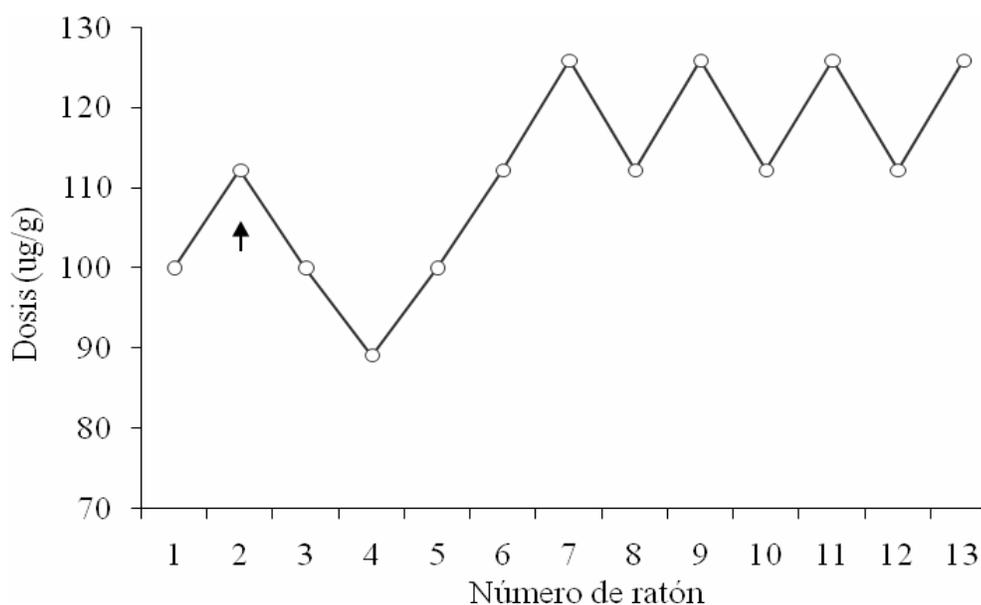


Figura 3. Determinación de la DL₅₀, por vip en ratones C57BL/6, del veneno de ejemplares hembras de *Rhopalurus laticauda* capturados en Querecual, municipio Bolívar, estado Anzoátegui. La flecha indica el punto de inflexión e inicio de los datos válidos para el cálculo de la DL₅₀. DL₅₀, vip, 60 minutos = 112,20 (106,09–119,04) $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ de ratón. IV = 11,60%.

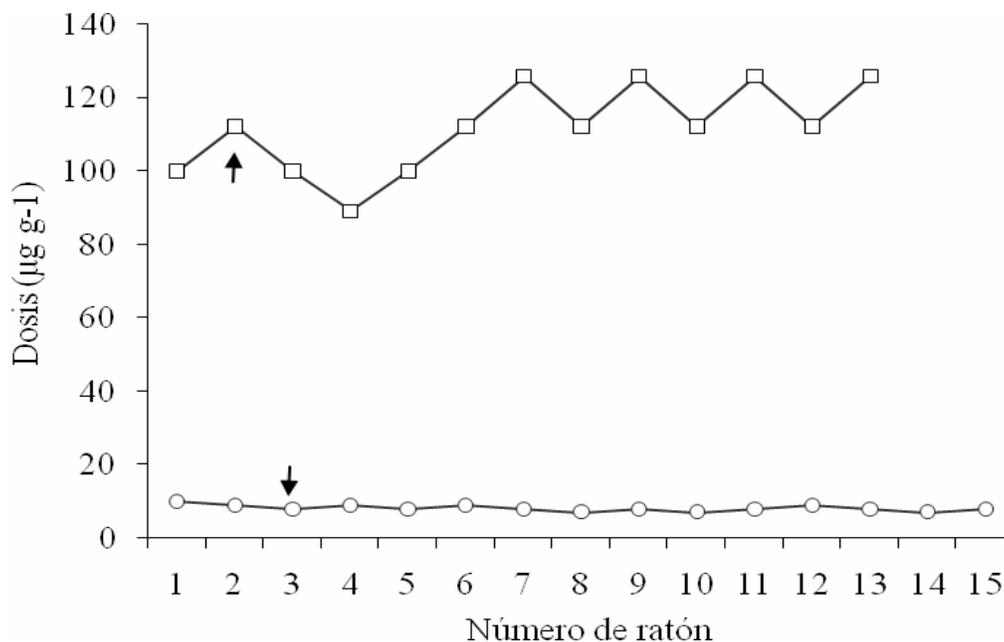


Figura 4. Comparación de las DL₅₀ del veneno de *Tityus nororientalis* y *Rhopalurus laticauda*, por vip en ratones C57BL/6. DL₅₀, vip, 60 minutos: *Rhopalurus laticauda* (superior) = 112,20 (106,09–119,04) $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ de ratón. *Tityus nororientalis* (inferior) = 7,94 (7,51–8,43) $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ de ratón; Kruskal-Wallis = 18,95; $p = 0,000001$.

Curso de toxicidad aguda experimental inducida por el veneno de *Tityus nororientalis* y *Rhopalurus laticauda*

En las tablas 6 y 7 se presentan las frecuencias de los signos clínicos inducidos por efecto de toxicidad aguda experimental del veneno de *Tityus nororientalis* y *Rhopalurus laticauda* en ratones C57BL/6.

Con el veneno de *Tityus nororientalis* (Tabla 6), se observaron 22 signos clínicos de toxicidad. En el 100% de los casos, correspondientes a la corrida válida, piloerección, sialorrea leve, defecación (con heces formadas) y signo de Straub. En 83,30%, hiperactividad inicial, taquipnea, limpieza de nariz/boca, secreción ocular, sialorrea abundante y convulsiones. Luego (75,00%), movimientos deglutorios, secreción ocular y disnea (caracterizada por respiración abdominal forzada que evolucionó a bradipnea/apnea [66,70%]). Seguidamente, exoftalmos (66,70%), defecación pastosa (50,00%), parálisis espástica (50,00%) e hipotonía del tren posterior (50,00%). Con menor frecuencia marcha atáxica (41,70%), hipoactividad (33,30%), deshidratación (8,30%) y defecación líquida (8,30%). Algunos signos se observaron fundamentalmente en la población de ratones que fallecieron por efecto tóxico del veneno: bradipnea/apnea (6/6 ratones muertos y 2/6 ratones sobrevivientes), exoftalmos (6/6 muertos y 2/6 vivos), hipotonía del tren posterior (5/6 muertos y 1/6 vivos) y parálisis espástica (6/6 muertos y 0/6 vivos).

Similarmente, con el veneno de *Rhopalurus laticauda* (Tabla 7), se observaron 21 signos clínicos de toxicidad; algunos con frecuencias equivalentes y otros con frecuencias menores a las desarrolladas por toxicidad aguda con el veneno de *Tityus nororientalis*. Análogamente, el veneno de *Rhopalurus laticauda*, produce algunos signos observados fundamentalmente en la población de ratones que fallecieron: bradipnea/apnea (4/5 ratones muertos y 2/6 ratones sobrevivientes), exoftalmos (3/5 muertos y 1/6 vivos), y convulsiones (5/5 muertos y 0/6 vivos).

En la tabla 8 se presenta la comparación de la frecuencia e intensidad de los signos clínicos inducidos por efecto de toxicidad aguda experimental con los venenos

ensayados. El veneno de *Tityus nororientalis*, expresó cuadros neurotóxicos autonómicos y del sistema nervioso central más frecuentes e intensos que el desarrollado con el veneno de *Rhopalurus laticauda*.

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

Signo de Toxicidad	Presencia del Signo de Toxicidad														Total	
	Ratones vivos							Ratones muertos							n	%
	R ₃	R ₅	R ₈	R ₁₀	R ₁₁	R ₁₄	Total	R ₄	R ₆	R ₇	R ₉	R ₁₂	R ₁₃	Total		
Piloerección	+	+	+	+	+	+	6/6	+	+	+	+	+	+	6/6	12	100
Inicio sialorrea	+	+	+	+	+	+	6/6	+	+	+	+	+	+	6/6	12	100
Heces formadas	+	+	+	+	+	+	6/6	+	+	+	+	+	+	6/6	12	100
Signo de Straub	+	+	+	+	+	+	6/6	+	+	+	+	+	+	6/6	12	100
Hiperactividad	-	+	+	+	+	+	5/6	+	+	+	-	+	+	5/6	10	83,3
Taquipnea	+	+	+	-	-	+	4/6	+	+	+	+	+	+	6/6	10	83,3
Limpieza facial	+	+	+	+	+	-	5/6	+	+	+	-	+	+	5/6	10	83,3
Secreción ocular	+	+	+	+	+	+	6/6	-	+	+	+	+	-	4/6	10	83,3
Sialorrea abundante	+	+	-	+	+	-	4/6	+	+	+	+	+	+	6/6	10	83,3
Convulsiones	+	+	+	+	-	-	4/6	+	+	+	+	+	+	6/6	10	83,3
Movimientos Deglutorios	+	+	+	+	-	-	4/6	+	+	+	-	+	+	5/6	9	75,0
RFA (†)	+	+	+	-	-		3/6	+	+	+	+	+	+	6/6	9	75,0
Exoftalmia	+	-	+	-	-	-	2/6	+	+	+	+	+	+	6/6	8	66,7
Bradipnea/Apnea	-	-	-	-	+	+	2/6	+	+	+	+	+	+	6/6	8	66,7
Heces pastosas	-	+	-	+	+	-	3/6	+	+	-	-	-	+	3/6	6	50,0
Parálisis espástica	-	-	-	-	-	-	0/6	+	+	+	+	+	+	6/6	6	50,0
HTP (‡)	-	-	-	-	-	+	1/6	+	+	-	+	+	+	5/6	6	50,0
Marcha atáxica	+	+	-	-	-	-	2/6	+	+	-	-	-	+	3/6	5	41,7
Hipoactividad	-	+	-	-	-	+	2/6	-	-	+	+	-	-	2/6	4	33,3
Deshidratación	-	-	-	-	+	-	1/6	+	-	-	-	-	-	0/6	1	8,3
Heces líquidas	+	-	-	-	-	-	1/6	-	-	-	-	-	-	0/6	1	8,3
Vivo	+	+	+	+	+	+	6/6	-	-	-	-	-	-	0/6	6	50,0
Muerto	-	-	-	-	-	-	0/6	+	+	+	+	+	+	6/6	6	50,0

† Respiración forzada abdominal; ‡ Hipotonía tren posterior

Tabla 7. Frecuencia de manifestaciones clínicas inducidas por toxicidad aguda del veneno de *Rhopalurus laticauda* administrado por vía intraperitoneal en ratones C57BL/6.

Signo de Toxicidad	Presencia del Signo de Toxicidad														Total	
	Ratones vivos							Ratones muertos								
	R ₄	R ₅	R ₆	R ₈	R ₁₀	R ₁₂	Total	R ₂	R ₃	R ₇	R ₉	R ₁₁	Total	n	%	
Lordosis	+	+	+	+	+	+	6/6	+	+	+	+	+	5/5	11	100	
Piloerección	+	+	+	+	+	+	6/6	+	+	+	+	+	5/5	11	100	
Hiperactividad	+	+	+	+	+	+	6/6	+	+	+	-	+	4/5	10	83,3	
Marcha tambaleante	+	+	+	+	+	+	6/6	+	+	+	+	+	5/5	10	83,3	
Secreción ocular †	+	-	+	+	+	+	5/6	+	+	+	+	+	5/5	10	83,3	
Signo de Straub	-	+	+	+	+	-	4/6	-	+	+	+	+	4/5	8	72,7	
Inicio sialorrea	+	-	+	+	+	+	5/6	+	+	-	+	-	3/5	8	72,7	
Taquipnea	+	-	+	+	+	+	5/6	+	+	+	-	+	4/5	9	75,0	
Movimientos deglutorios	+	+	-	+	-	+	4/6	+	-	+	+	+	4/5	8	66,7	
Hipoactividad	+	+	-	+	+	+	5/6	+	-	-	+	-	2/5	7	58,3	
Heces pastosas	+	+	-	-	+	+	4/6	+	+	-	+	-	3/5	7	58,3	
Temblor de cola	+	-	-	+	+	+	3/6	-	+	+	+	+	4/5	7	58,3	
Bradipnea/Apnea	+	-	-	+	-	-	2/6	+	+	+	-	+	4/5	6	54,5	
Temblores generalizados	-	-	+	+	+	-	3/6	+	+	-	-	-	2/5	5	45,5	
Limpieza facial	-	-	+	+	+	-	3/6	-	-	+	-	+	2/5	5	45,5	
Convulsiones	-	-	-	-	-	-	0/6	+	+	+	+	+	5/5	5	45,5	
Exoftalmos	-	-	-	-	-	+	1/6	+	+	-	+	-	3/5	4	36,4	
Heces líquidas	+	+	-	-	-	-	2/6	+	+	-	-	-	2/5	4	36,4	
Heces formadas ¥	-	+	+	-	-	-	2/6	-	-	-	+	-	1/5	3	27,3	
Parálisis tren posterior	-	-	-	-	-	-	0/6	-	-	+	+	-	2/5	2	18,2	
Sialorrea abundante	-	-	-	-	-	-	0/6	-	-	-	+	-	1/5	1	9,1	

† Escasa; ¥ Con moco o sin moco

El cuadro clínico, con el veneno de *Tityus nororientalis* (Tabla 6), inicia con hiperactividad, seguido de inmediato con disnea (taquipnea), piloerección y desarrollo de marcha de tipo atáxica. Seguidamente, con signos de potente estimulación autonómica muscarínica (movimientos deglutorios, sialorrea que evolucionó de leve a abundante, secreción ocular, defecación pastosa y/o líquida dependiente de la especie),

alteraciones del sistema nervioso central (signo de straub, convulsiones, hipotonía del tren posterior, parálisis espástica dependiente de la especie), respiratorio (respiración forzada abdominal que evolucionó en los casos graves a bradipnea/apnea), motor (contractura piel del dorso) y exoftalmos. Con menor frecuencia deshidratación, defecación líquida, micción, relajación de esfínteres, hipotonía tren anterior.

Los ratones inyectados con el veneno de *Rhopalurus laticauda* (Tabla 7) presentaron signos similares al de *Tityus nororientalis* excepto contractura de piel del dorso, parálisis espástica y deshidratación; desarrollando además un signo caracterizado como lordosis. El 72,70% de los ratones iniciaron sialorrea catalogada de leve intensidad; sin evolucionar a la instalación de sialorrea abundante.

La tabla 9 presenta las diferencias fundamentales del cuadro de toxicidad aguda, en frecuencia e intensidad, provocadas por los venenos ensayados. El veneno de *Tityus nororientalis* inducen mayor frecuencia de cuadros convulsivos (de tipo tónico-clónicos) que el de *Rhopalurus laticauda*. El signo de Straub, otro con base en el sistema nervioso central, se presentó con mayor regularidad cuando los ratones C57BL/6 fueron inyectados con el veneno de *Tityus nororientalis* que con el de *Rhopalurus laticauda*. Con relación a los temblores generalizados, su frecuencia fue alta con el veneno de *Tityus nororientalis* y baja con el de *Rhopalurus laticauda*.

El veneno de *Tityus nororientalis* inducen parálisis espástica e hipotonía del tren posterior fundamentalmente en la población de ratones C57BL/6 que mueren por el efecto tóxico del veneno.

El veneno de *Tityus nororientalis* posee mayor potencia muscarínica secretagoga global que el de *Rhopalurus laticauda*.

Tabla 8. Comparación de frecuencia e intensidad de manifestaciones clínicas inducidas por toxicidad aguda experimental con los venenos de *Tityus nororientalis* y *Rhopalurus laticauda* en ratones C57BL/6.

Signo de Toxicidad	Veneno Ensayado	
	<i>Tityus nororientalis</i>	<i>Rhopalurus laticauda</i>
Hiperactividad	+++	+++
Disnea: taquipnea	+++	+++
Piloerección	+++	+++
Alteración de la marcha	+++ (ataxia)	+++
Disnea: RAF	+++	++
Fascies tóxica	+++	++
Rascado de nariz/boca	+++	++
Hipoactividad	+++	++
Distensión abdominal	+++	+
Sialorrea (inicio)	+++	+++
Movimientos deglutorios	+++	++
Signo de Straub	+++	++
Defecación pastosa	+++	++
Hipotonía tren posterior	+++	++
Sialorrea abundante	+++	+
Convulsiones	+++	+
Secreción ocular	+++	+
Contractura piel del dorso	+++	-
Temblores generalizados	++	+
Exoftalmos	++	++
Parálisis	++ (espástica)	-
Disnea: bradipnea/apnea	++	++
Deshidratación	+	-
Defecación líquida	+	+
Micción	+	+
Relajación de esfínteres	+	+
Hipotonía tren anterior	+	+
Lordosis	-	+++

RAF: Respiración abdominal forzada Signo ausente: -; Intensidad del signo presente: + (leve), ++ (moderado), +++ (intenso); Frecuencia del signo presente: + (de 1 a 39% de los ratones), ++ (40 a 69%) y +++ (70 a 100%)

Tabla 9. Diferencias fundamentales en frecuencia e intensidad de las manifestaciones clínicas inducidas por toxicidad aguda experimental inducidas por los venenos de *Tityus nororientalis* y *Rhopalurus laticauda* en ratones C57BL/6.

Signo de Toxicidad	Veneno Ensayado	
	<i>Tityus nororientalis</i>	<i>Rhopalurus laticauda</i>
Distensión abdominal	+++	+
Signo de Straub	+++	++
Sialorrea abundante	+++	+
Convulsiones	+++	+
Contractura piel del dorso	+++	-
Temblores generalizados	++	+
Exoftalmos	++	+
Parálisis espástica	++	-
Bradipnea/apnea (disnea)	++	++
Deshidratación	+	-
Defecación líquida	+	+
Hipotonía tren anterior	+	+
Lordosis	-	+
Potencia Muscarínica		
Secretagoga Global	++++	+

Signo ausente: -; Intensidad del signo presente: + (leve), ++ (moderado), +++ (intenso); Frecuencia del signo presente: + (de 1 a 39% de los ratones), ++ (40 a 69%) y +++ (70 a 100%); Potencia secretagoga muscarínica global: ++++ (muy alta), +++ (alta), ++ (mediana), + (baja), - (ausente)

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 5). Los signos inmediatos de toxicidad aguda, en los primeros 10 minutos, fueron hiperactividad, seguida de taquipnea, piloerección, inicio de sialorrea, limpieza nariz/boca y movimientos deglutorios. Posterior a estos, en el espectro medio de toxicidad moderadamente grave, entre los 10 y 20 minutos, se instaló distensión abdominal, inicio secreción ocular, evacuación pastosa, signo de Straub, disnea (caracterizada por respiración forzada abdominal), convulsiones y marcha ataxica. Tardíamente como expresión de toxicidad grave, después de los 20 minutos, sialorrea abundante (23,0 m), hipotonía del 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 que evolucionó a bradipnea-apnea), como signos de toxicidad grave, se expresaron prematuramente en el grupo de ratones que murieron (sialorrea = 14,0 m; disnea = 18,0 m) cuando se compararon con los vivos (sialorrea = 22,0 m; disnea = 28,0 m) ($p = 0,0001$) (Figura 5). 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 *Rhopalurus laticauda* (Figura 6), el tiempo de aparición de los signos fue gradual; caracterizados por 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 *Tityus nororientalis*, los signos de inicio de sialorrea, limpieza facial y la disnea (caracterizada por respiración forzada abdominal que evolucionó a bradipnea-apnea) se expresaron prematuramente en el grupo de ratones que murieron (limpieza facial = 18 m, inicio de sialorrea = 20,0 m y disnea = 20,0 m) cuando se compararon con los vivos (inicio de sialorrea = 38,0 m, limpieza facial = 37,0 m y disnea = 35,0 m) ($p = 0,0001$) (Figura 6). El exoftalmos bilateral (30,0 m), los temblores generalizados (32,5 m) y las convulsiones (51,0 m), en el espectro de toxicidad severa, surgen casi exclusivamente en el grupo de ratones que fallece.

Cuando se compararon los cursos de toxicidad de ambos venenos (Figura 7), los signos inducidos con el veneno de *Rhopalurus laticauda* aparecen tardíamente cuando se contrastaron con los de *Tityus nororientalis*.

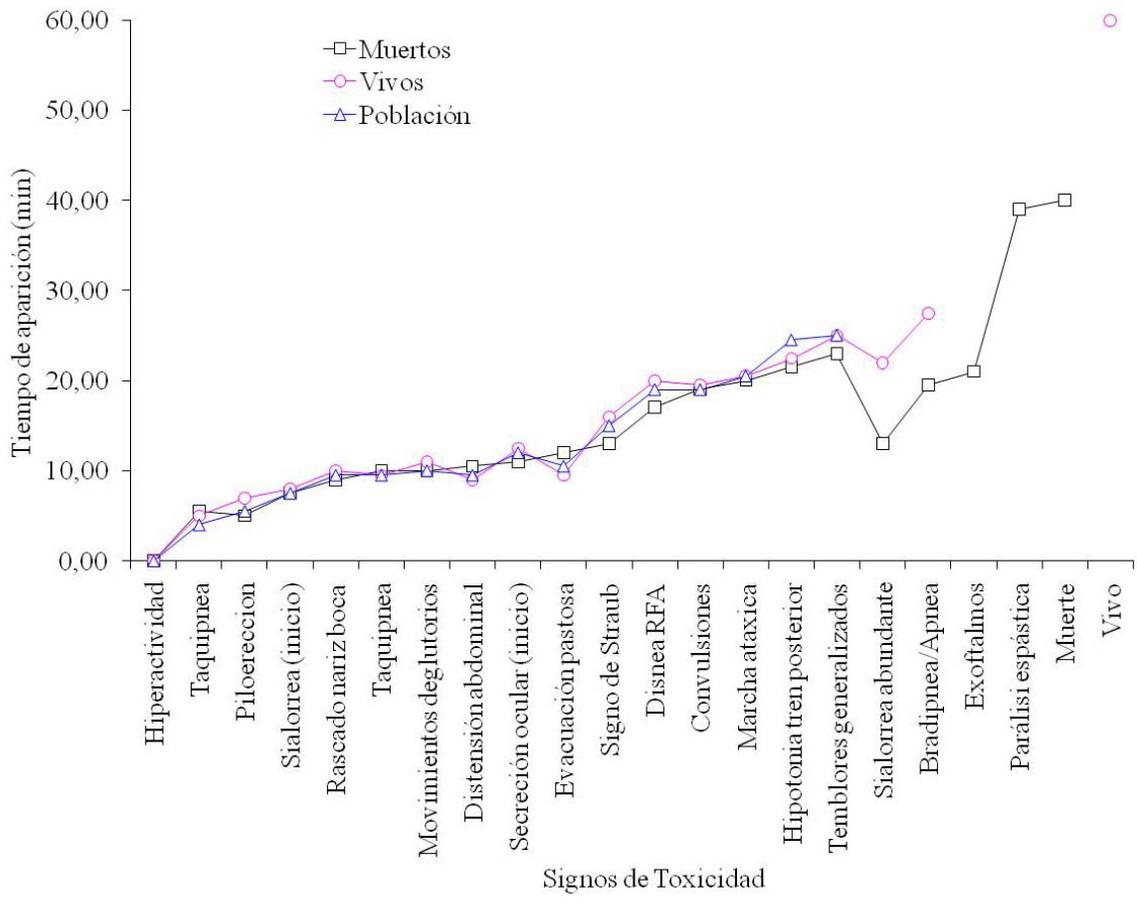


Figura 5. Comparación del curso temporal de toxicidad aguda experimental entre ratones fallecidos y sobrevivientes sometidos al veneno de *Tityus nororientalis*. El curso temporal de color azul indica el tiempo de presentación de los signos sin diferencias significativas cuando se comparan las dos poblaciones de ratones C57BL/6.

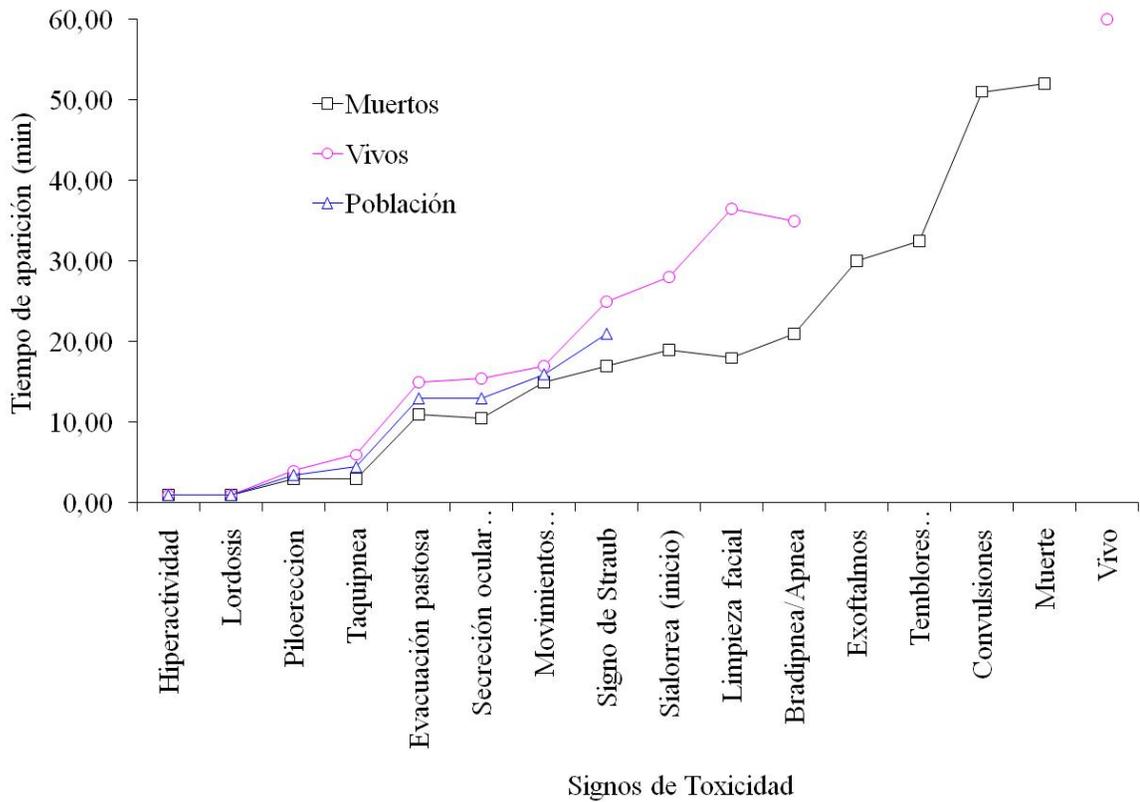


Figura 6. Comparación del curso temporal de toxicidad aguda experimental entre ratones fallecidos y sobrevivientes sometidos al veneno de *Rhopalurus laticauda*. El curso temporal de color azul indica el tiempo de presentación de los signos sin diferencias significativas cuando se comparan las dos poblaciones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

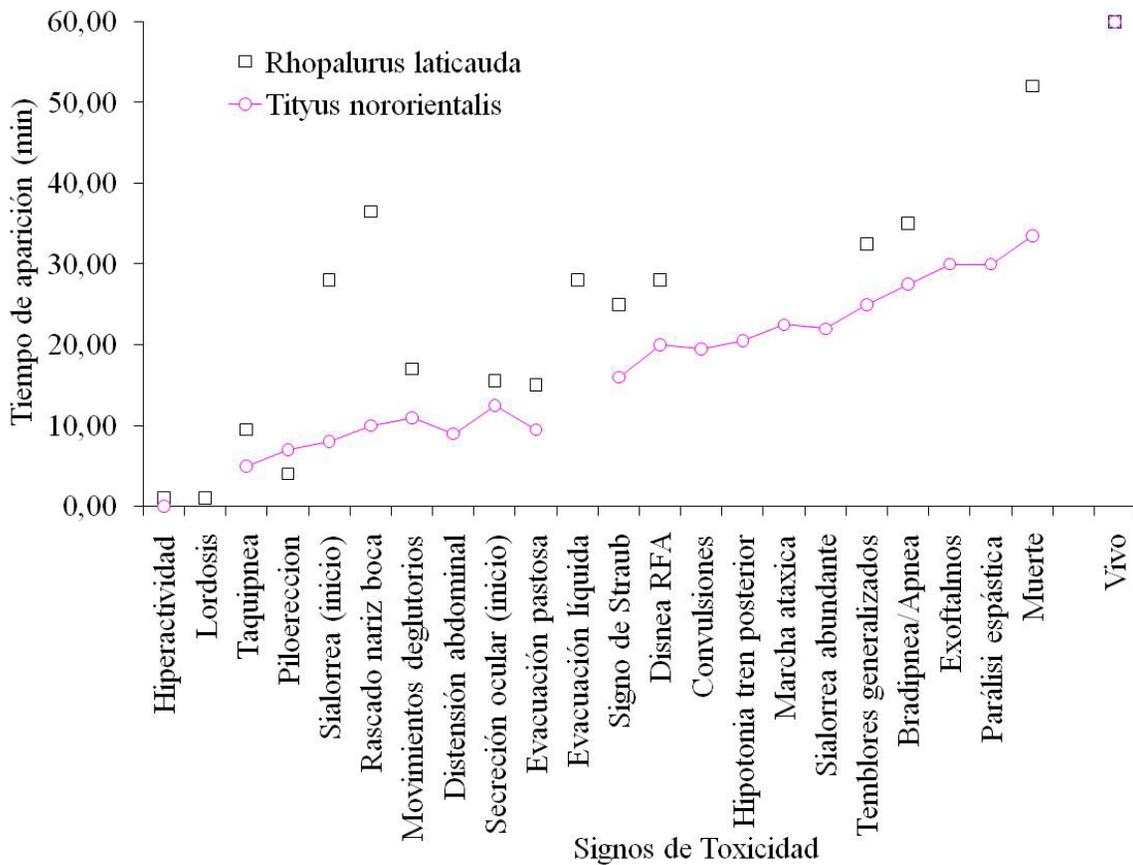


Figura 7. Comparación del curso temporal de toxicidad aguda experimental de ratones C57BL/6 inyectados con el veneno de *Tityus nororientalis* y el de *Rhopalurus laticauda*. Los signos inducidos con el veneno de *Rhopalurus laticauda* aparecen tardíamente cuando se comparan con los de *Tityus nororientalis*

Algunos efectos de toxicidad aguda experimental se presentan en la figura 8: facies tóxica y piloerección, signos de estimulación muscarínica (sialorrea, secreción ocular y defecación pastosa), signo de Straub e hipotonía muscular. Los signos antes de morir fueron los periodos de bradipnea/apnea con cianosis peribucal. La parálisis espástica se observó sólo con el veneno de *Tityus nororientalis*. Este signo se evidenció inmediatamente antes de la muerte de todos los ratones, en la que los animales experimentales adoptaron una posición parecida al opistótono con hiperextensión del tren posterior. Todos los ratones, antes del *exitus letalis*, presentaron apnea prolongada.

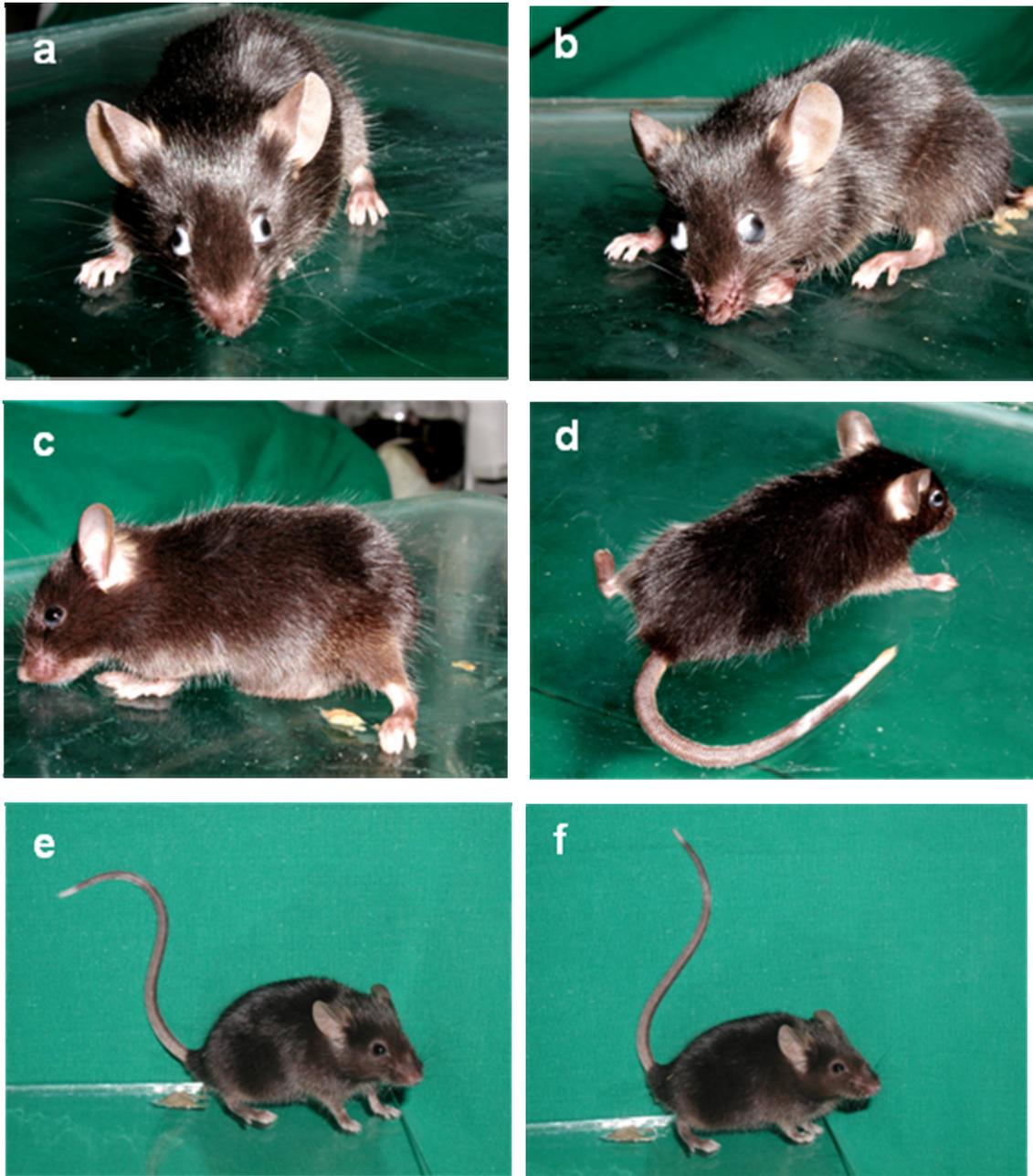


Figura 8. Ratón C57BL/6 sobreviviente inyectado, por vip, con el veneno de *Tityus nororientalis* mostrando algunos signos de toxicidad aguda. (a) y (b) Secreción ocular evidente. En (a y b), nótese exoftalmos bilateral. (c) Distensión abdominal y defecación pastosa. (c) y (d) Hipotonía del tren posterior. (f) Signo de Straub. a) (Tomado de De Sousa *et al.*, 2010).

DISCUSIÓN

El envenenamiento escorpiónico experimental es un complejo sindromático asociado, fundamentalmente, a disfunción en los sistemas cardiorrespiratorio y nervioso (central y periférico) e inflamatorio (Sofer *et al.*, 1996; Mazzei de Dávila *et al.*, 1997; Voronov *et al.*, 1999; Otero *et al.*, 1998; Mazzei de Dávila *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 con el veneno 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) las adrenérgicas 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 regiones endémicas de Venezuela y otros países de América del Sur (Borges y De Sousa, 2006; De Sousa *et al.*, 2000). Por lo tanto, tal analogía valida el uso del modelo múrido, cepa C57BL/6, para la estimación del efecto de venenos de escorpión 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; Bermúdez *et al.*, 2009; De Sousa y Borges, 2009; De Sousa *et al.*, 2009; De Sousa-Insana y Pino, 2009; Aguilera *et al.*, 2010; Chadee, 2010; De Sousa *et al.*, 2010; De Sousa, 2011; Paz *et al.*, 2011).

Los ratones inyectados con el veneno de *Rhopalurus laticauda* presentaron signos similares al de *Tityus nororientalis*, aunque con diferencias importantes, tal como se ha indicado previamente en otros trabajos (Boadas y Marcano, 2004; De Sousa *et al.*, 2009; De Sousa-Insana y Pino, 2009; Chadee, 2010; De Sousa, 2011). Con el veneno de

Rhopalurus laticauda no se observaron los signos de contractura de la piel del dorso, parálisis espástica o deshidratación. De forma característica, el 72,70% de los ratones iniciaron sialorrea, catalogada de leve intensidad, sin evolucionar a la instalación de sialorrea abundante. Otra diferencia fundamental con el veneno de *Tityus nororientalis* fue la ausencia de cuadros convulsivos (de tipo tónico-clónicos), parálisis espástica e hipotonía del tren posterior. Similarmente, el signo de Straub (con base de origen en el sistema nervioso central) y los temblores generalizados (de origen motor periférico), se desarrollaron con mayor regularidad cuando los ratones C57BL/6 fueron inyectados con el veneno de *Tityus nororientalis*. En el curso de toxicidad, el veneno de *Tityus nororientalis* posee mayor potencia muscarínica secretagoga global que el de *Rhopalurus laticauda*.

Sumado al patrón de baja toxicidad y potencia del veneno de *Rhopalurus laticauda*, previamente comentado, se anexa el hecho de su baja productividad (0,24 mg de proteínas/escorpión; 0,12 mg.µl⁻¹) comparado con el resultado de *Tityus nororientalis* (1,64 mg/escorpión; 0,28 mg.µl⁻¹) obtenido en este trabajo. Previamente, De Sousa (2011) mencionó que *Rhopalurus laticauda* es la especie que produce menos veneno de todos los escorpiones evaluados (Bhutidae, Chactidae) en el Laboratorio de Toxinología del Grupo de Investigación en Toxinología Aplicada y Animales Venenosos de la Escuela de Ciencias de la Salud, Universidad de Oriente. Al respecto, indicó que el cháctido *Neochactas* cf. *orinocensis* (0,93 mg de proteínas/escorpión; 0,23 mg.µl⁻¹) y el bútido *Tityus gonzalespongai* (1,01 mg/escorpión; 0,26 mg.µl⁻¹) (el menos productivo de todos los *Tityus*) originan mayor cantidad de veneno que *Rhopalurus laticauda*; pero menor cantidad que las hembras de *Tityus nororientalis* capturadas en varias localidades de la región nororiental de Venezuela.

La DL₅₀ del veneno de *Tityus nororientalis*, para una hora de experimentación, fue de 7,94 (7,51–8,43) mg.kg⁻¹ (Tabla 10). Su potencia no fue significativamente diferente de la DL₅₀ del veneno de una población cercana de *Tityus nororientalis* ubicada en la

localidad de Las Melenas (municipio Mariño, Península de Paria); sin embargo, el veneno de los ejemplares evaluados en este trabajo presenta uno de los títulos de DL₅₀ más bajos calculados para esta especie del nororiente de Venezuela.

Tabla 10. Comparación de las DL₅₀, por vía intraperitoneal, de los venenos de varias especies de Buthidae del nororiente venezolano en el modelo mürido C57BL/6.

Corrida Válida	Venenos ensayados											
	<i>Tityus</i>						<i>R. laticauda</i>					
Dosis Ensayadas												
Anti-log	0,85	0,90	0,95	1,00	1,05	1,10	1,15	1,95	2,00	2,05	2,10	
Dosis µg g ⁻¹ de ratón	7,08	7,94	8,91	10,00	11,22	12,59	14,13	89,13	100,00	112,20	125,89	
	<i>T. nororientalis</i> (a)											
	7,94											
	7,51–8,43											
	<i>T. nororientalis</i> (b)											
	8,43											
	8,00–8,54											
	<i>T. nororientalis</i> (c)											
	9,46						112,20					
	8,91–9,46						106,09–119,04					
	<i>T. quirogae</i> (d)											
	10,00											
	9,46–10,61											
	<i>T. gonzalespongai</i> (e)											
	11,91											
	11,22 – 12,59											

(a) Este trabajo: San Juan de Las Galdonas, (b) Las Melenas, estado Sucre, (c) Catuaro (localidad tipo de la especie), estado Sucre, (d) La Guanota, estado Monagas y (e) La Piedra, estado Anzoátegui. La barra de color gris significa las dosis ensayadas para cada veneno

Este trabajo corrobora que las poblaciones de *Tityus nororientalis* distribuidos en la Península de Paria poseen venenos de mayor potencia cuando se comparan con algunas de *Tityus nororientalis* del oeste del estado Sucre o del estado Anzoátegui; incluso

cuando se contrasta con otros *Tityus* de la región (*Tityus quirogae* y *Tityus gonzalespongai*) (Tabla 10). De los bítidos venezolanos, al presente, *Rhopalurus laticauda* posee el veneno menos tóxico de esta familia. Sin embargo, ostenta mayor potencia contrastado con el veneno del cháctido *Neochactas* cf. *orinocensis* (De Sousa, 2011; Paz *et al.*, 2011).

Romero (2010) y De Sousa (2011), demostraron cualitativamente diferencias en toxicidad entre los venenos obtenidos de distintas poblaciones de *Tityus nororientalis* (Las Melenas, Catuaro y Altos de Sucre) cuando fueron comparados sus índices letales (DL_{50}). Estos hallazgos presentados por Romero (2010) y De Sousa (2011), y relacionados con las evidencias presentadas en la tabla 11, indicarían por lo menos dos grupos de toxicidad para el veneno de los ejemplares hembra de *Tityus nororientalis*: (a) uno más potente conformado por las poblaciones de escorpiones provenientes de las localidades de San Juan de Las Galdonas, Las Melenas (Península de Paria, Sucre) y Sabana de Piedra (Subregión Turimiquire, Sucre) y (b) uno menos potente para Catuaro, los Altos de Sucre (Subregión Turimiquire, Sucre) y Alto Llano (Subregión Turimiquire, Anzoátegui). En este contexto, el intervalo de confianza de la DL_{50} del veneno de los ejemplares de Catuaro, se ubicaría entre los dos grupos de toxicidad.

De Sousa-Insana y Pino (2009), Chadee (2010) y De Sousa *et al.* (2010), aportaron nuevos elementos a la complejidad del veneno de *Tityus nororientalis*, al demostrar que el índice de letalidad en ratones C57BL/6 presenta diferencias intersexuales cuando se evalúa, por separado, el veneno proveniente de ejemplares hembras o machos de la especie; adicionalmente los autores han señalado diferencias funcionales (por técnica de ELISA) y en composición (por MALDI-TOFF) entre los venenos de machos y hembras provenientes de una misma localidad. En consecuencia, los autores demostraron mediante ensayo de ELISA, que el veneno de las hembras de *Tityus nororientalis*, en comparación con el de los machos, fue neutralizado con menor efectividad por los anticuerpos anti-*Tityus discrepans*; sugiriendo diferencias en la superficie bioactiva de las toxinas (De Sousa *et al.*, 2010). Los autores concluyeron que los machos y las

hembras de *Tityus nororientalis* producen venenos con diferente composición y actividad que podría tener implicaciones epidemiológicas y clínicas.

Tabla 11. 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>	mg.kg ⁻¹	DL ₅₀	
		Límites de confianza	Kruskall – Wallis; <i>p</i>
Alto Llano, Anzoátegui (*)	♀♀ = 9,46	9,46 – 10,00	0,00; ns
Altos de Sucre, Sucre (Δ)	♀♀ = 9,46	8,91 – 10,00	
Catuario, Sucre (§)	♀♀ = 9,46	8,91 – 9,46	
Catuario, Sucre (Δ)	♀♀ = 9,46	8,91 – 9,46	
6,11; <i>p</i> = 0,03			
Sabana de Piedra, Monagas ‡	♀♀ = 8,43	7,94 – 8,90	0,00; ns
Las Melenas, Sucre Δ	♀♀ = 8,43	7,99 – 8,54	
San Juan de Las Galdonas, Sucre ¥	♀♀ = 7,94	7,51–8,43	

* Turkali (2004); Δ Romero (2010); § De Sousa-Insana y Pino (2009), Chadee (2010), De Sousa *et al.* (2010); ‡ Marín y Rodríguez (2001); ¥ Este trabajo

Los hechos presentados en este trabajo, en combinación con los aportes realizados por otros autores indicarían la complejidad y alta diversidad farmacológica de los venenos de los *Tityus nororientalis*. Por otro lado, contribuiría con la elaboración del mapa de letalidad de las especies de *Tityus* venezolanos propuesto por Borges (1996) y, más recientemente, para la demarcación del país en “Provincias Toxinológicas” planteada por Borges y De Sousa (2006), Borges y De Sousa (2009) y Borges *et al.* (2010a), en conjunto con la incorporación de datos epidemiológicos, clínicos, moleculares e inmunológicos para una comprensión integral del escorpionismo como problema de salud colectiva en Venezuela; conjuntamente con el provocado por otros artrópodos venenosos (De Sousa *et al.*, 2007b; Kiriakos *et al.*, 2008; Borges y De Sousa, 2009).

CONCLUSIONES

Existen diferencias en los parámetros de producción de veneno entre las dos especies de búlidos evaluados.

La DL_{50} del veneno de *Tityus nororientalis*, bajo las condiciones experimentales establecidas, fue de 7,94 (7,51–8,43) $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ de ratón y para *Rhopalurus laticauda* de 112,20 (106,09–119,04) $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ de ratón.

El veneno de *Tityus nororientalis* fue significativamente más potente, en términos del índice letal, que el de *Rhopalurus laticauda*.

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

En el curso de toxicidad, el veneno de *Tityus nororientalis* posee mayor potencia muscarínica secretagoga global que el de *Rhopalurus laticauda*.

Cuando se comparan las dos especies, el curso temporal de toxicidad aguda experimental es de magnitud y cinética distinta.

BIBLIOGRAFÍA

- 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, Escuela de Ciencias de la Salud, Núcleo de Anzoátegui, Universidad de Oriente.
- 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.
- Barona, J.; Otero, R. y Núñez, V. 2004. Aspectos toxicológicos e inmunoquímicos del veneno de escorpión *Tityus pachyurus* Pocock de Colombia: Capacidad neutralizante de antivenenos producidos en Latinoamérica. *Biomédica*, 24: 43-49.
- 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, Núcleo de Anzoátegui Universidad de Oriente.
- Borges, A. 1996. Escorpionismo en Venezuela. *Acta Biológica Venezuelica*, 16: 65-75.
- Borges, A.; Alfonzo, 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.; Arandia, J.; Colmenares-Arias, 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.; 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.; Bermingham, E.; Herrera, N., Alfonzo, M. y Sanjur, O. 2010b. 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. 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 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.; 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.; De Sousa, L. y Manzanilla, J. 2006a. Description of a New *Tityus* species (Scorpiones: Buthidae) from Sierra de Portuguesa, western Venezuela, based on morphological and mitochondrial DNA evidence. *Zootaxa*, 1107: 49-68.

Borges, A.; García, C.; Lugo, E.; Alfonzo, M.; Jowers, M. y Op den Camp, 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. 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.; Rojas-Runjaic, F.; Diez, N.; Faks, J.; Op den Camp, H. y De Sousa, L. 2010a. 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.

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

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.

Chadee, R. 2010. Evaluación de la actividad biológica del veneno de ejemplares machos y hembras de *Tityus nororientalis* (Scorpiones, Buthiade) en el modelo mûrido C57BL/6. Trabajo de Pregrado, Departamento de Bioanálisis, Escuela de Ciencias, Núcleo de Sucre, Universidad de Oriente.

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, Núcleo de Sucre, Universidad de Oriente.

Coronado, L.; Alvarado, M. y Dutari, J. 2008. Características clínicas y epidemiológicas del alacranismo. Periodo 2002-2007. Hospital del Niño, Panamá. *Revista 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, Escuela de Ciencias, Núcleo de Sucre, Universidad de Oriente.

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, Escuela de Ciencias de la Salud, Núcleo de Anzoátegui, Universidad de Oriente.

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, Núcleo de Anzoátegui, Universidad de Oriente.

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, Escuela de Ciencias de la Salud, Núcleo de Anzoátegui, Universidad de Oriente.

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, Escuela de Ciencias de la Salud, Núcleo de Anzoátegui, Universidad de Oriente.

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.; 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.; 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. 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.; 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.; 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, 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.; 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.; 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.; 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.; 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.; 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.; 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-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 mûrido 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.
- 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*, 5th 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. 1984. *Escorpiones de Venezuela*. Cuaderno Lagoven. Caracas.

- 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 Biológica 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.
- 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, Escuela de Ciencias de la Salud, Núcleo de Anzoátegui, Universidad de Oriente.
- Illanes, A. 1981. Farmacología de los venenos de escorpión. Trabajo de Ascenso a Profesor Titular. Departamento de Ciencias Fisiológicas, Escuela de Medicina, Núcleo de Bolívar, Universidad de Oriente.
- 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 Venomous Animals 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, Escuela de Medicina, Núcleo de Anzoátegui, Universidad de Oriente.

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

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.

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.

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 triatominos (Reduviidae) y escorpiones (Buthidae) en *Cocos nucifera* y *Acrocomia aculeata* (Aracaceae) de Anzoátegui, Venezuela. *Boletín de Malariología y Salud Ambiental*, 51: 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.

Ortiz, N. 1985. Actividad biológica del veneno de escorpión (*R. laticauda*) en ratones. Determinación de la dosis letal cincuenta (DL 50). Trabajo de Pregrado, Departamento de Ciencias Fisiológicas, Escuela de Medicina, Núcleo de Bolívar, Universidad de Oriente.

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.

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

- 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.
- Paz, N.; Rodríguez, M. y Santodomingo, A. 2011. Perfil de actividad biológica *in vivo* del veneno de *Neochactas* cf. *orinocensis* (Escorpiones, Chactidae). Trabajo de Pregrado, Departamento de Ciencias Fisiológicas, Escuela de Ciencias de la Salud, Núcleo de Anzoátegui, Universidad de Oriente.
- 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.D.; Alagón, A.; Fletcher Jr., P. y Erikson, B. 1977. Purification and properties of mammalian toxins from venom of the Brazilian scorpion *Tityus serrulatus* Lutz and Mello. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 180: 394-403.
- 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.
- 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.J.M. y Becerra-R, A. Diversidad y distribución geográfica de la escorpiofauna del estado Zulia, Venezuela. *Boletín del Centro de Investigaciones Biológicas*, 42(4): 461-477, 2008.
- 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.
- Romero, M. 2010. Elaboración del mapa clínico-epidemiológico y toxinológico del escorpionismo en el estado Sucre, Venezuela. Trabajo de *Magíster Scientiarium*, Postgrado en Biología Aplicada, Escuela de Ciencias, Núcleo de Sucre, Universidad de Oriente.

Saldarriaga, M. y Otero, R. 2000. Los Escorpiones: aspectos ecológicos, biológicos y toxicológicos. *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. 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, Escuela de Medicina, Núcleo de Anzoátegui, Universidad de Oriente.

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 – 1/6

Título	CUANTIFICACIÓN DE VOLÚMENES, CANTIDAD DE PROTEÍNAS Y EVALUACIÓN DE LA TOXICIDAD DE LOS VENENOS DE <i>Tityus nororientalis</i> Y <i>Rhopalurus laticauda</i> (SCORPIONES, BUTHIDAE), DEL NORORIENTE DE VENEZUELA
Subtítulo	

Autor(es)

Apellidos y Nombres	Código CVLAC / e-mail	
Córdova Aguiar, Carygnth José	CVLAC	11.377.111
	e-mail	carygnth@hotmail.com
	e-mail	
Pinto Valor, Lourdes Josefina	CVLAC	11.634.042
	e-mail	l.demota@hotmail.com
	e-mail	

Palabras o frases claves:

Scorpiones, Buthidae
<i>Tityus nororientalis</i>
<i>Rhopalurus laticauda</i>
Veneno
Toxicidad
DL ₅₀

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 2/6

Líneas y sublíneas de investigación:

Área	Subárea
Escuela de Ciencias	Bioanálisis
	Farmacología
	Toxinología

Resumen (abstract):

El presente trabajo se realizó con el objeto de evaluar parámetros de producción y de toxicidad diferencial entre los venenos de *Tityus nororientalis* y *Rhopalurus laticauda* (Scorpiones, Buthidae), en el modelo murino, en términos de producción de veneno, títulos letales y curso temporal del envenenamiento agudo. 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 (DL_{50}), 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 *Tityus nororientalis*, por estimulación eléctrica, produce en promedio para peso, volumen y concentración, 1,64 mg; 5,82 μl y 0,28 $\text{mg } \mu\text{l}^{-1}$; valores significativamente mayores al de *Rhopalurus laticauda* (en promedio 0,24 mg; 2,07 μl y 0,12 $\text{mg } \mu\text{l}^{-1}$). La potencia (en $\text{mg } \text{kg}^{-1}$) del veneno de *Tityus nororientalis* fue significativamente superior [7,94 (7,51-8,43)] al de *Rhopalurus laticauda* [112,20 (106,09-119,04); $p = 0,000001$]. El cuadro clínico indicó neurotoxicidad aguda de mayor potencia con el veneno de *Tityus nororientalis*; con signos predominantemente colinérgicos (con algunas manifestaciones adrenérgicas y centrales), similares a aquellos observados en humanos envenenados. Aunque parcialmente comparable en su naturaleza neurotóxica, el curso temporal de toxicidad entre los dos venenos fue 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 *Tityus nororientalis*. Los resultados obtenidos indicarían variaciones del veneno en estas dos especies que podrían estar relacionadas con su expresión proteómica y que, adicionalmente, apuntaría a confirmar, en el caso de *Tityus nororientalis*, la alta complejidad del veneno de este grupo taxonómico con expresión en diversidad toxinológica dentro de la misma especie.

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 3/6

Contribuidores:

Apellidos y Nombres	ROL / Código CVLAC / e-mail	
Bianchi, Olga María	ROL	CA <input type="checkbox"/> AS <input type="checkbox"/> TU <input type="checkbox"/> JU <input checked="" type="checkbox"/>
	CVLAC	8.444.764
	e-mail	olga_maria_bianchi@hotmail.com
	e-mail	
Cornejo, Pablo	ROL	CA <input type="checkbox"/> AS <input type="checkbox"/> TU <input type="checkbox"/> JU <input checked="" type="checkbox"/>
	CVLAC	24.129.599
	e-mail	cepablo5@yahoo.com
	e-mail	
De Sousa, Leonardo	ROL	CA <input type="checkbox"/> AS <input type="checkbox"/> TU <input checked="" type="checkbox"/> JU <input type="checkbox"/>
	CVLAC	14.214.493
	e-mail	leonardodesousa@yahoo.com
	e-mail	
	ROL	CA <input type="checkbox"/> AS <input type="checkbox"/> TU <input type="checkbox"/> JU <input type="checkbox"/>
	CVLAC	
	e-mail	
	e-mail	

Fecha de discusión y aprobación:

Año Mes Día

2012	11	09
------	----	----

Lenguaje: SPA _____

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 4/6

Archivo(s):

Nombre de archivo	Tipo MIME
TESIS toxicidad.tityus.rhopalurus.doc	Application/Word

Alcance:

Espacial: NACIONAL (Opcional)

Temporal: TEMPORAL (Opcional)

Título o Grado asociado con el trabajo: Licenciado en Bioanálisis

Nivel Asociado con el Trabajo: Licenciado

Área de Estudio: Bioanálisis, Escuela de Ciencias

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

UNIVERSIDAD DE ORIENTE (NÚCLEO SUCRE)

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 5/6



UNIVERSIDAD DE ORIENTE
CONSEJO UNIVERSITARIO
RECTORADO

CU Nº 0975

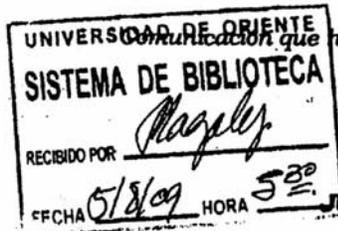
Cumaná, 04 AGO 2009

Ciudadano
Prof. JESÚS MARTÍNEZ YÉPEZ
Vicerrector Académico
Universidad de Oriente
Su Despacho

Estimado Profesor Martínez:

Cumplo en notificarle que el Consejo Universitario, en Reunión Ordinaria celebrada en Centro de Convenciones de Cantaura, los días 28 y 29 de julio de 2009, conoció el punto de agenda **"SOLICITUD DE AUTORIZACIÓN PARA PUBLICAR TODA LA PRODUCCIÓN INTELECTUAL DE LA UNIVERSIDAD DE ORIENTE EN EL REPOSITORIO INSTITUCIONAL DE LA UDO, SEGÚN VRAC Nº 696/2009"**.

Leído el oficio SIBI – 139/2009 de fecha 09-07-2009, suscrita por el Dr. Abul K. Bashirullah, Director de Bibliotecas, este Cuerpo Colegiado decidió, por unanimidad, autorizar la publicación de toda la producción intelectual de la Universidad de Oriente en el Repositorio en cuestión.



Comunicación que hago a usted a los fines consiguientes.

Cordialmente,

JUAN A. BOLAÑOS CUNDELE

Secretario



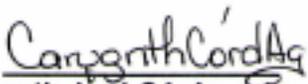
C.C: Rectora, Vicerrectora Administrativa, Decanos de los Núcleos, Coordinador General de Administración, Director de Personal, Dirección de Finanzas, Dirección de Presupuesto, Contraloría Interna, Consultoría Jurídica, Director de Bibliotecas, Dirección de Publicaciones, Dirección de Computación, Coordinación de Teleinformática, Coordinación General de Postgrado.

JABC/YGC/maruja

Apartado Correos 094 / Telfs: 4008042 - 4008044 / 8008045 Telefax: 4008043 / Cumaná - Venezuela

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso- 6/6

Artículo 41 del REGLAMENTO DE TRABAJO DE PREGRADO (vigente a partir del II Semestre 2009, según comunicación CU-034-2009) : "los Trabajos de Grado son de la exclusiva propiedad de la Universidad de Oriente, y sólo podrán ser utilizados para otros fines con el consentimiento del Consejo de Núcleo respectivo, quien deberá participarlo previamente al Consejo Universitario para su autorización".


Carygnth José Córdova Aguiar
AUTOR 1


Lourdes Josefina Pinto Valor
AUTOR 2


Prof. Leonardo de Sousa
TUTOR


POR LA COMISION DE TRABAJO DE GRADO
Prof(a). Elsa Salazar

