



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

**PROPUESTA DEL MAPA DE TOXICIDAD PARA EL VENENO
DE ALGUNOS ESCORPIONES DEL NORORIENTE
VENEZOLANO**

Asesor:

Leonardo De Sousa

Trabajo de Grado presentado por:

Yéguez Cabeza, Ana Ysabel

Como requisito parcial para revalidar el título de Médico-Cirujano

Barcelona, diciembre de 2010



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

DECLARACIÓN JURADA

El Trabajo de Grado presentado por la **Dra. Yégüez Cabeza, Ana Ysabel**, C.I. № V-9.271.880, titulado “**PROPUESTA DEL MAPA DE TOXICIDAD PARA EL VENENO DE ALGUNOS ESCORPIONES DEL NORORIENTE VENEZOLANO**”, para revalidar el título de Médico Cirujano, ha sido aprobado por los miembros del Jurado Evaluador, quienes lo han encontrado correcto en su contenido y forma de presentación; asimismo, declaran que los datos presentados son responsabilidad exclusiva de los autores, en fe de lo cual firman:

Prof. Demetrio Kiriakos
Miembro Principal

Prof. Stefano Bónoli
Miembro Principal

Prof. Leonardo De Sousa
Miembro Principal Asesor

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

Diciembre 2010

DEDICATORIA

A Dios, porque lo que tengo, lo que soy, te lo debo a ti... porque has transformado la tristeza, el desánimo, la intranquilidad, la debilidad y la derrota, en alegría, ánimo, paz, fortaleza y Victoria. Eres el motor que impulsa mi vida. Gracias por enseñarme que yo debo hacer mi posible, porque tú te encargaras de hacer lo imposible.

A mis padres Alcides y Milca, quienes me apoyaron durante toda mi formación como profesional, pero tu madre amada... desde mi regreso a Venezuela has tenido siempre la palabra de aliento, y has sido una gran motivadora para que yo siga adelante, y continuas apoyándome en todas las áreas de mi vida. Gracias por tanto... tanto amor.

A mis pastores Enrique y Ruth, quienes desde que los conocí, me acogieron con amor de padres, me entregaron su amistad, y siempre han sido una guía en medio de la confusión, ayudándome a estar alineada a los planes de Dios. Gracias.

A mi esposo Pedro Félix, porque has sido mi compañero en muchas luchas, y durante estos años me has apoyado hasta donde ha sido tu posible. Gracias.

A mis hijos Bárbara y José David, por haber venido a iluminar mi vida, y haberme permitido sacar a relucir lo que Dios ha colocado en todo ser humano: “la esencia del amor”. Gracias por que cada risa y travesura de ustedes ha sido una pieza fundamental en mi crecimiento como ser humano y como mujer.

A mis hermanas Elisa y Anaelis porque juntas en nuestra convivencia y superando todas nuestras diferencias, hemos logrado establecer un vínculo más fuerte que va más allá de un simple lazo de sangre que nada ni nadie podrá destruir jamás. Gracias.

A “Mamatía”, porque durante toda mi vida, tú te entregaste con amor por completo a mi crianza, a la de mis hijos, y a toda la familia... aunque fue muy poco lo que pude retribuirte..., Gracias por bendecir mi vida antes de partir.

A mis hermanas en Cristo: Zulai, Yurbin, Nelis, Dulce, Carolina, Johana, Ana, Dayana, Heidi, Hecnelis, Anita, porque de cada una de ustedes he recibido su respaldo en oración, un consejo, un “sigue adelante” para que yo en medio de las pruebas, pueda levantarme y salir airosa. Gracias.

A cada una de las “hijas espirituales” que Dios me ha entregado, porque ha sido su amistad, sus oraciones y su vida por completo motivo de muchas bendiciones en mi vida. Gracias.

Al Dr. Leonardo De Sousa, por su paciencia, tolerancia, respeto, profesionalismo. Gracias por ayudarme, aunque no era su obligación, en forma desinteresada y entregando siempre lo mejor de usted, “Gracias al médico”, “Gracias al maestro”, “Gracias al amigo”. Es usted un digno ejemplo a seguir. Gracias.

“Que Dios los bendiga a todos”

Ana Ysabel Yéguez Cabeza

AGRADECIMIENTO

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

Al Laboratorio de Toxinología y Grupo de Investigación en Toxinología Aplicada y Animales Venenosos, Secciones de Bioquímica y Farmacología, Departamento de Ciencias Fisiológicas, Escuela de Ciencias de la Salud, Núcleo Anzoátegui, por permitirme el desempeño y elaboración de nuestro Trabajo de Grado.

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.

Especialmente a la Dra. Mercedes Matos de Bónoli y al Dr. Leonardo De Sousa por su asesoramiento científico y estímulo para seguir creciendo intelectualmente; así como por su disposición permanente e incondicional en aclarar nuestras dudas y por sus substanciales sugerencias durante la redacción de este trabajo.

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

A todas aquellas personas que de una u otra forma contribuyeron en la realización del presente trabajo, nuestros agradecimientos con mucho aprecio. Fueron días de angustias, noches de desvelo, trasladarnos de una ciudad a otra; pero al final lo logramos.

Ana Ysabel Yéguiez Cabeza

RESUMEN

PROPUESTA DEL MAPA DE TOXICIDAD PARA EL VENENO DE ALGUNOS ESCORPIONES DEL NORORIENTE VENEZOLANO

Yéguez Cabeza, Ana Ysabel. Asesor, De Sousa, Leonardo. Laboratorio de Toxinología, Grupo de Investigación en Toxinología Aplicada y Animales Venenosos, Secciones de Farmacología y Bioquímica, Departamento de Ciencias Fisiológicas, Escuela de Ciencias de la Salud, Universidad de Oriente, Núcleo de Anzoátegui.

Con la información relacionada con la productividad del veneno y con los índices letales y el curso temporal de toxicidad aguda experimental, en el presente trabajo se pretende establecer el mapa preliminar de toxicidad de los venenos de algunos bítidos del nororiente venezolano estudiados en el Laboratorio de Toxinología del Grupo de Investigación en Toxinología Aplicada y Animales Venenosos del Departamento de Ciencias Fisiológicas, Escuela de Ciencias de la Salud, Universidad de Oriente, Núcleo de Anzoátegui. Para tal fin se compararon, en detalle, los venenos de un lote de *Rhopalurus laticauda* capturados en el campus de la Universidad de Oriente, Núcleo de Anzoátegui y de *Tityus nororientalis* capturados en su localidad tipo ubicada en Catuaro, municipio Ribero, estado Sucre. Por ordeño eléctrico, *R. laticauda* es un escorpión de baja productividad de veneno, en promedio originó una concentración de 0,12 mg/μL, mientras que *T. nororientalis* produjo 0,43 mg/μL. El primer punto de inflexión (fenómeno muerte – no muerte o no muerte – muerte) con el veneno de *T. nororientalis* se obtuvo con un consumo de 0,39 mg (394,1 μg) de proteínas y con el de *R. laticauda* con la administración de 7,36 mg (7.361,84 μg). La cantidad total de veneno de *T. nororientalis*, utilizada en la experiencia, fue de 2,2 mg (2.163,66 μg), en doce ratones, para obtener la DL₅₀; significativamente menor que la cuantía total de veneno de *R. laticauda* [21,4 mg (21.367,72 μg) de proteínas, en 14 ratones (corrida no válida y corrida válida)]. La letalidad (n = 4; 80,0% de los ratones) se obtuvo con dosis menores (10,00 μg g⁻¹) del veneno de *T. nororientalis*; significativamente menor al de *R. laticauda* (125,89 μg g⁻¹). La DL₅₀ [106,01 (100,00 – 112,95) μg. g⁻¹ de ratón] del veneno de *R. laticauda* fue significativamente de menor potencia que la DL₅₀ [9,46 (8,91 – 9,46) μg.g⁻¹ de ratón] de *T. nororientalis*. Los venenos de ambas especies, en ratones C57BL/6, inducen signos de toxicidad aguda experimental comunes; aunque con mayor frecuencia e intensidad cuando se ensayó el de *T. nororientalis*. Se han demostrado cualitativamente diferencias en toxicidad entre venenos obtenidos de distintas poblaciones de *T. nororientalis* y de *T. quirogae*; lo que podría indicar dos grupos de toxicidad para los *Tityus* del nororiente venezolano: uno de mayor potencia y otro de menor potencia. Las evidencias podrían indicar la conformación de un mapa de toxicidad entre las distintas especies de escorpiones; y dentro de una misma especie, dependiendo de su origen geográfico.

ÍNDICE

DECLARACIÓN JURADA	ii
DEDICATORIA	iii
AGRADECIMIENTO	iv
RESUMEN.....	v
ÍNDICE	vi
LISTA DE TABLAS	viii
LISTA DE FIGURAS	xi
INTRODUCCIÓN	1
Taxonomía y Epidemiología.....	1
Características del veneno.....	6
Antecedentes históricos.....	7
JUSTIFICACIÓN	11
OBJETIVOS	12
General	12
Específicos	12
MATERIALES Y METODOS	13
Tipo de investigación	13
Población y muestra	13
Fuente del veneno de escorpión	13
Extracción y purificación parcial del veneno.....	14
Determinación de la concentración de proteínas	15
Fuente de los animales de experimentación.....	15
Evaluación de la DL ₅₀ y de los signos de toxicidad agudo experimental	16
Criterios de Inclusión	17
Criterios de Exclusión.....	18
Análisis estadísticos	18

RESULTADOS y DISCUSIÓN	20
Conceptos preliminares para clasificar la toxicidad del veneno de algunos bítidos nororientales	20
Productividad de veneno	27
Toxicidad del veneno	27
Consideraciones finales sobre la toxicidad del veneno de bítidos del nororiente de Venezuela	39
CONCLUSIONES	43
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	44
Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso	62

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Especies del género <i>Tityus</i> de la región nororiental de Venezuela.	4
Tabla 2. Datos geográficos de captura de especies de bñtidos utilizados en distintos trabajos para la evaluaci3n de la productividad de veneno, calculo del índice letal, evaluaci3n del curso temporal de toxicidad aguda experimental y perfiles cromatogr3ficos o espectros de masa de algunas toxinas contenidas en los venenos evaluados en el Laboratorio de Toxinología, Grupo de Investigaciones en Ciencias de la Salud (nota: las referencias se organizaron cronol3gicamente).	22
Tabla 3. Criterios de inclusi3n de distintos trabajos, evaluados en el Laboratorio de Toxinología, Grupo de Investigaciones en Toxinología Aplicada y Animales Venenosos, Departamento de Ciencias Fisiol3gicas, Escuela de Ciencias de la Salud, que cumplieron los requisitos.	25
Tabla 4. Criterios de exclusi3n de distintos trabajos, evaluados en el Laboratorio de Toxinología, Grupo de Investigaciones en Toxinología Aplicada y Animales Venenosos, Departamento de Ciencias Fisiol3gicas, Escuela de Ciencias de la Salud, que no cumplieron los requisitos.	26
Tabla 5. Comparaci3n de los datos de productividad del veneno, obtenido por estimulaci3n el3ctrica, de <i>Tityus nororientalis</i> y <i>Rhopalurus laticauda</i>	27
Tabla 6. Datos para el c3lculo de la DL ₅₀ del veneno de ejemplares hembra de <i>Tityus nororientalis</i> en ratones C57BL/6, administrado por vía intraperitoneal, para una hora de observaci3n (De Sousa-Insana y Pino, 2009; Chadee, 2010; Romero, 2010; De Sousa y col., 2010).	29

Tabla 7. Datos para el cálculo de la DL ₅₀ del veneno de <i>R. laticauda</i> en ratones C57BL/6, administrado por vía intraperitoneal, para una hora de observación (Boadas y Marcano, 2004).	30
Tabla 8. Frecuencia de muerte y secuencia de dosis administradas, por vía intraperitoneal, del veneno de ejemplares hembra de <i>Tityus nororientalis</i> en el modelo múrido C57BL/6 (De Sousa-Insana y Pino, 2009; Chadee, 2010; Romero, 2010; De Sousa y col., 2010).	32
Tabla 9. Frecuencia de muerte y secuencia de dosis administradas, por vía intraperitoneal, del veneno de <i>R. laticuda</i> en el modelo múrido C57BL/6 (Boadas y Marcano, 2004).	33
Tabla 10. Comparación de las frecuencias de muerte y secuencias de dosis administradas, por vía intraperitoneal, en la corrida válida, con los venenos de <i>T. nororientalis</i> (De Sousa-Insana y Pino, 2009; Chadee, 2010; Romero, 2010; De Sousa y col., 2010) y <i>R. laticuda</i> (Boadas y Marcano, 2004) en el modelo múrido C57BL/6.	34
Tabla 11. Comparación de la frecuencia e intensidad de las manifestaciones clínicas inducidas por toxicidad aguda del veneno de <i>Tityus nororientalis</i> (De Sousa-Insana y Pino, 2009; Chadee, 2010; Romero, 2010; De Sousa y col., 2010) y de <i>R. laticuda</i> (Boadas y Marcano, 2004), en ratones C57BL/6.	38
Tabla 12. Comparación de la actividad biológica y DL ₅₀ del veneno de varias especies de escorpiones evaluados en el Laboratorio de Toxinología del Grupo de Investigación en Toxinología Aplicada y de Animales Venenosos, Sección de	

Farmacología, Departamento de Ciencias Fisiológicas de la Escuela de Ciencias de la Salud, Universidad de oriente, Núcleo de Anzoátegui. 40

Tabla 13. Comparación de las DL₅₀ del veneno de ejemplares de *Tityus nororientalis* provenientes de varias localidades del nororiente de Venezuela (Romero, 2010) 42

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Comparación de las DL ₅₀ de los venenos de <i>T. nororientalis</i> y <i>R. laticauda</i>	35
Figura 2. Comparación, en detalle, de las DL ₅₀ de los venenos de <i>R. laticauda</i> (2a) y de <i>T. nororientalis</i> (2b) en ratones C57BL/6.	36

INTRODUCCIÓN

Taxonomía y Epidemiología

Los escorpiones pertenecen al Superphyllum Arthropoda, Phylum Chelicerata, Clase Arachnida, Orden Scorpiones (Gonzalez-Sponga, 1996a; Manzanilla y col., 2002). Este orden, basado en análisis filogenéticos, propuestos por Prendini y Wheeler (2005), está organizado en 18 familias agrupando más de 1500 especies. La Buthidae, posee la más amplia distribución geográfica en el mundo y contiene algunas especies pertenecientes a seis géneros de gran importancia médica debido a la toxicidad de sus venenos: *Androctonus* (norte de África, zona del Mediterráneo y Medio Oriente), *Leiurus* (Medio Oriente), *Mesobuthus* (India, Pakistán), *Buthus* (Mediterráneo y sureste de Asia), *Centruroides* (sureste de Estados Unidos de América, México, América Central y parte del norte de Suramérica) y *Tityus* (parte de Centroamérica, islas del Caribe y Suramérica hasta el norte de Argentina) (Borges, 1996; De Sousa y col., 2000; Borges y De Sousa, 2006; Gómez y Otero, 2007). En el continente americano, el escorpionismo representa un problema de salud pública (Chippaux, 2008; Chippaux y Alagón, 2008; Chippaux y Goyffon, 2008), particularmente como emergencia pediátrica en México (Dehesa-Dávila, 1989), Brasil (Lourenço y Cuellar, 1995; Biondi-Queiroz y col., 1996; Lourenço y col., 1996; von Eisckstedt y col., 1996; Spirandeli-Cruz, 1999), Colombia (Otero y col., 1998, 2004; Saldarriaga y Otero, 2000; Gómez y col., 2002; Gómez y col., 2010), Panamá (Coronado y col., 2008) y Venezuela (Mota y col., 1994; Borges, 1996; De Sousa y col., 1995, 2000; Reyes-Lugo y Rodríguez-Acosta, 2001; Borges y col., 2002; Ghersy de Nieto y col., 2004; Guinand y col., 2004; Borges y De Sousa, 2006, 2009; De Sousa y col., 2007a; Mejias y col., 2007; De Sousa y Borges, 2009).

En Venezuela, la escorpiofauna cuenta con una amplia distribución geográfica (González-Sponga 1996a, Rojas-Runjaic y De Sousa 2007). De las 18 familias, cinco están presentes (Buthidae, Chactidae, Euscorpiidae, Hemiscolopidae y Scorpionidae) agrupando 17 géneros y 184 especies descritas hasta el año 2006 (Rojas-Runjaic y De Sousa, 2007). Las familias Buthidae y Chactidae, son las más diversas tanto en géneros como en especies, reúnen respectivamente el 51,6% y 43,0% de los taxa venezolanos (Rojas-Runjaic y De Sousa, 2007). Igualmente, *Tityus* [de mayor importancia clínica y epidemiológica en el país (Mota y col., 1994; Porras y col., 1994, Mazzei de Dávila y col., 1997; De Sousa y col., 2000; Reyes-Lugo y Rodríguez-Acosta, 2001; Borges y col., 2002; De Sousa y col., 2005, 2007a; Guinand y col., 2004; Borges y De Sousa, 2006; Mejías y col., 2007)] es el más diverso de los búlidos venezolanos con aproximadamente 68 especies (Rojas-Runjaic y De Sousa, 2007; Borges y col., 2010a).

De los 68 *Tityus* venezolanos, once han sido incriminados como responsables de accidentes graves y/o fatales (Borges y De Sousa, 2006), algunos ubicados en las regiones más densamente pobladas del país: *T. zulianus*, *T. valerae* (Región Andina y sur del Lago de Maracaibo), *T. perijanensis* (Sierra de Perijá, occidente del estado Zulia), *T. falconensis* (Región Centro-Occidental, en el Macizo Coriano), *T. pittieri*, *T. isabelceciliae*, *T. discrepans* (Región Centro-Norte Costera), *T. quirogae*, *T. nororientalis*, *T. caripitensis* y *T. neoespartanus* (Región Nororiental e Insular) a los cuales ahora se agrega *T. breweri* en la región nororiental del macizo Guayanés (Borges y col., 2010b). Tres especies adicionales (*T. barquisimetanus*, *T. sanarensis* y *T. ivicnancor*) habitan áreas del estado Lara, donde se han relatado casos severos (Borges y De Sousa, 2006). Otro búlido con inclinación epidemiológica, aunque no de preocupación clínica, correspondido a la baja toxicidad de su veneno es *Rhopalurus laticauda* (Ortiz, 1985; Boadas y Marcano, 2004) debido a su amplia distribución geográfica en el país (Manzanilla y De Sousa, 2003).

Para la región Nororiental (Anzoátegui, Monagas y Sucre), hasta el año 2007, se han registrado 11 especies de *Tityus* (21,2% de los *Tityus* venezolanos) (Rojas-Runjaic y De Sousa, 2007) (tabla 1): *T. monaguensis* González-Sponga, 1974; *T. arellanoparrai* González-Sponga, 1985; *T. tamayoi* González-Sponga, 1987; *T. nororientalis* González-Sponga, 1996; *T. surorientalis* González-Sponga, 1996; *T. caripitensis* Quiroga, De Sousa & Parrilla-Álvarez, 2000; *T. uquirensis* González-Sponga, 2001 (De Sousa y col., 2008a complementan la descripción del macho de este taxón); *T. cachipalensis* González-Sponga, 2002; *T. irapaensis* González-Sponga, 2002; *T. gonzalespongai* Quiroga, De Sousa, Parrilla-Álvarez & Manzanilla, 2004 y *T. quirogae* De Sousa, Manzanilla & Parrilla-Álvarez, 2006.

La distribución del género, por entidad federal, es la siguiente (tabla 1): (1) En el estado Monagas (cinco especies); *T. arellanoparrai*, *T. monaguensis*, *T. quirogae* [municipio Caripe (González-Sponga, 1996a; De Sousa y col., 2006)], *T. surorientalis* [municipio Sotillo (González-Sponga, 1996b)] y *T. caripitensis* [municipios Bolívar y Punceres (Quiroga y col., 2000)]. (2) En el estado Sucre (seis especies); *T. tamayoi*, *T. quirogae* [municipio Montes (González-Sponga, 1996a; De Sousa y col., 2006)], *T. nororientalis* [municipios Bolívar, Mejía, Montes y Ribero (González-Sponga, 1996b)], *T. irapaensis* [municipio Mariño (González-Sponga, 2002; Cornejo, 2008; De Sousa y col., 2009b)], *T. uquirensis* [municipios Arismendi y Mariño (González-Sponga, 2001; De Sousa y col., 2008a)] y *T. cachipalensis* [municipio Cajigal (González-Sponga, 2002)]. (3) Hasta el presente una sola especie de *Tityus*, *T. gonzalespongai* [municipio Freites (Quiroga y col., 2004)], es endémica para el estado Anzoátegui.

Tabla 1. Especies del género *Tityus* de la región nororiental de Venezuela.

ESPECIE	LOCALIDAD TIPO
DISTRIBUCIÓN	
01. <i>T. arellanoparrai</i>	Alrededores de la cueva El Guácharo, municipio Caripe, Monagas
	Conocida sólo para la Localidad Tipo
02. <i>T. irapaensis</i> = <i>T. tenuicauda</i> (ψ)	02b Las Melenas, Parque Nacional Península de Paria, municipio Mariño, Sucre
	Conocida sólo para la Localidad Tipo
03. <i>T. tamayoi</i>	Hacienda La Rinconada, Cumanacoa, municipio Montes, Sucre
	Conocida sólo para la Localidad Tipo
04. <i>T. monaguensis</i>	Cueva Los González, a 21 km de Caripe, municipio Caripe, Monagas
	Al parecer restringida a las áreas selváticas y cuevas del municipio Caripe, Monagas
05. <i>T. nororientalis</i>	Catuario, municipio Ribero, Sucre
	Embalse El Clavellino (municipio Ribero), Marigüitar (municipio Bolívar), San Antonio del Golfo y Pericantar (municipio Mejía) y Hacienda La Rinconada y Cumanacoa (municipio Montes), Sucre
06 <i>T. surorientalis</i>	Paso Nuevo, municipio Sotillo (Uracoa), Monagas
	Entre Temblador (municipio Libertador) y Barrancas (municipio Sotillo), estado Monagas
07. <i>T. caripitensis</i>	Caripito, municipio Bolívar, Monagas
	municipios Bolívar y Punceres, Monagas

-
- 08a Uquire, municipio Valdez (Arismendi), Sucre
08. *T. uquirensis*
-
- 08b. Las Melenas, Parque Nacional Península de Paria, municipio Mariño, Sucre
-
- Cachipal (entre Yaguaraparo e Irapa), municipio Cagigal, Sucre
09. *T. cachipalensis*
-
- Conocida sólo para la Localidad Tipo
-
- Hacienda La Orquídea, La Piedra, Mundo Nuevo, municipio Freites, Anzoátegui
10. *T. gonzalespongai*
-
- Conocida sólo para la Localidad Tipo
-
- Hacienda cafetalera La Encantada, sector Vuelta Larga, Sabana de Piedra, municipio Caripe, Monagas
11. *T. quirogae*
-
- Caserío La Loma, Las Trincheras, municipio Montes, Sucre
 (†) Sima Talpa Bothrops, El Toyano, municipio Sotillo, Anzoátegui
 (‡) Sima Los Escorpiones, El Toyano, municipio Sotillo, Anzoátegui
-
- 01 González-Sponga, 1985. *Mem. Soc. Cien. Nat. "La Salle"*, 45(123): 25-45.
 02 González-Sponga, 2002. *Bol. Acad. C. Fís. Mat Nat. Venezuela*. 62: 49-66.
 02 (ψ) Cornejo, 2008.
 03 González-Sponga, 1987. *Bol. Soc. Ven. Cien., Nat.* 41(144): 217-256.
 04 González-Sponga, 1974. *Bol. Soc. Venez Espel.*, 5(1): 55-72.
 05 González-Sponga, 1996b. *Acta Biol. Venez.*, 16(3): 1-38.
 06 González-Sponga, 1996b. *Acta Biol. Venez.*, 16(3): 1-38.
 07 Quiroga, De Sousa, Parrilla-Alvarez, 2000. *J. Venom. Anim. Toxins*, 6(1):99-117.
 08a González-Sponga, 2001. *Acta Biol. Venez.*, 21(3): 69-83.
 08b De Sousa, Manzanilla, Borges, Cornejo-Escobar, Gregoriani, 2008a. *Zootaxa*, 1828: 57-68.
 09 González-Sponga, 2002. *Bol. Acad. C. Fís. Mat Nat. Venezuela*. 62: 49-66.
 10 Quiroga, De Sousa, Parrilla-Alvarez, Manzanilla, 2004. *J. Venom. Anim. Toxins incl. Trop. Dis.*, 10(1):10-33.
 11 De Sousa, Manzanilla, Parrilla-Álvarez, 2004. *Rev. Biol. Trop.*, 54(2): 489-504.
 11 (†) Gregoriani y De Sousa, 2005.
 11 (‡) Gregoriani *et al.* 2007, 2008.

Características del veneno

La composición del veneno de los escorpiones de importancia médica, de la familia Buthidae, es compleja y variable (Borges y col., 1990; Harvey y col., 1998; Possani y col., 1999; Tsushima y col., 1999; Barona y col., 2004; Borges y col., 2004a,b; Barona y col., 2006; Borges y col., 2006a,b; Borges y De Sousa, 2006; Leipold y col., 2006; Borges y Rojas-Runjaic, 2007; Borges y col., 2008); un único veneno puede contener entre 100 y 200 componentes de origen polipeptídico (D'Suze y col., 2004a; Barona y col., 2006; Batista y col., 2006), cada uno con propiedades farmacológicas distintas. Dichos componentes tóxicos, presentes en los venenos de algunos bütidos, son proteínas de baja masa molecular, entre 6000 y 9000, esenciales en el efecto tóxico. Sus componentes más letales son α - y β -toxinas, cuyos blancos moleculares son los canales de Na^+ voltaje-dependiente en las membranas, modificando los mecanismos de permeabilidad iónica fundamentales para la homeostasis celular de varios órganos y sistemas, causando las alteraciones fisiológicas observadas tanto en el modelo experimental como en el humano (Becerril y col., 1995, 1997; Borges y col., 1999; Tsushima y col., 1999; Barona y col., 2006; Borges y col., 2006a; Borges y De Sousa, 2006; Leipold y col., 2006; Borges y col., 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 y col., 2002; Borges y col., 2004b; Borges y De Sousa, 2006; De Sousa y col., 2007a). Por lo tanto, el envenenamiento escorpiónico, asociado a algunas especies de la familia Buthidae, en un complejo sindromático principalmente relacionado a disfunción en los sistemas cardiorrespiratorio, nervioso, neuroendocrino y de autacoides (Illanes, 1981; De Sousa y col., 1995; Sofer y col., 1996; Mazzei de Dávila y col., 1997; Otero y col.,

1998; Voronon y col., 1999; Mazzei de Dávila y col., 2002; Otero y col., 2004; Borges y De Sousa, 2006; De Sousa y col., 2007a; Gómez y Otero, 2007).

Las manifestaciones clínicas tóxicas del escorpionismo (humano y experimental) están asociadas a alteraciones histológicas en la estructura y ultraestructura de varios órganos y sistemas (D'Suze y col., 1995; Blanco y col., 1999; Rodríguez-Acosta y col., 2000a, b, Strauss y col., 2000, Rodríguez-Acosta y col., 2001, Borges y col., 2004b, Ghersy de Nieto y col., 2004, D'Suze y col., 2004b, 2007, Velasco y col., 2007). Desde el punto de vista histopatológico (experimental) se han observado cambios estructurales en distintos tejidos, de ratones inyectados con el veneno de varias especies de *Tityus* venezolanos, como *T. discrepans*, *T. caripitensis*, *T. nororientalis* y *T. zulianus* (Foung y García, 1994; D'Suze y col., 1995; Fermín y Quintero, 1996; Portillo y col., 1996; Lugo y Urbaneja, 2007; Borges y col., 2004b; Albornoz y col., 2009; Salomón, 2009). Borges y colaboradores (2004b) sugieren la existencia de mecanismos especie-específicos en su efecto nocivo sobre páncreas; al respecto, por ejemplo, el veneno de *T. zulianus* al parecer posee componentes con mayor toxicidad sobre páncreas que el veneno de *T. discrepans*.

Antecedentes históricos

En Venezuela, las publicaciones indican que la atención del estudio toxinológico de los escorpiones se ha dirigido exclusivamente al veneno de pocas especies de *Tityus*, de importancia médica en el país por su alta diversidad toxinológica (Borges y De Sousa, 2006, 2009; Borges y col., 2008, 2010a; De Sousa y col., 2010), y enfocado fundamentalmente en el abordaje bioquímico, farmacológico, biotecnológico e inmunológico de sus venenos; a saber: *T. perijanensis* (Borges y col., 2005; Borges y Rojas-Runjaic, 2007), *T. imei* (Borges y col., 2006a), *T. breweri* (Borges y col., 2010a), *T. gonzalespongai* (De Sousa y col., 2009a), *T. nororientalis* (Borges y col., 2008; De Sousa y col., 2010) y especialmente los venenos de *T. zulianus* (Borges y

col., 2002, Páez y col., 2003; Borges y col., 2004a, 2004b) y *T. discrepans* (Borges y col., 1990; D'Suze y col., 1995, 1997; Borges y col., 1999; Blanco y col., 1999; D'Suze y col., 1999a, 1999b; Tsushima y col., 1999; Rodríguez-Acosta y col., 2000a, 2000b; Strauss y col., 2000; Rodríguez-Acosta y col., 2001; D'Suze y col., 2004a, 2004b; 2004c; Borges y col., 2004b, 2006b, 2006c; Batista y col., 2006; D'Suze y col., 2007; Brazón y col., 2008, 2009; D'Suze y col., 2009; Díaz y col., 2009). Contrastando con lo anterior, el veneno de otros grupos taxonómicos ha sido poco evaluado (De Sousa, comunicación personal); entre los que se encuentra el de *R. laticauda* (Ortiz, 1985; Boadas y Marcano, 2004).

En el Laboratorio de Toxinología del Grupo de Investigación en Toxinología Aplicada y Animales Venenosos, Departamento de Ciencias Fisiológicas, Escuela de Ciencias de la Salud de la Universidad de Oriente, Núcleo de Anzoátegui:

1. Desde el año 1990 se caracteriza según criterios clínico-epidemiológicos (Borges y De Sousa, 2006; De Sousa y col., 1995, 1996, 1997, 1999, 2000, 2005, 2007a; De Sousa y Borges, 2009), sistemáticos (taxonomía, distribución e historia natural) (Quiroga y col., 1999, 2000; De Sousa, 2006; De Sousa y col., 2006, 2008a, 2008b, 2009b, 2009c; Díaz y col., 2005; De Los Ríos, 2006; Padrón y Romero, 2006; Manzanilla y col., 2002; Manzanilla y De Sousa, 2003; Quiroga y col., 2000, 2004; Rojas-Runjaic y De Sousa 2007; Cornejo, 2008; De Sousa y col., 2009b) y toxicológicos (Borges y col., 2008; De Sousa 2006, De Sousa y col., 2009a, 2010) la macroregión endémica de escorpionismo en la zona Nororiental-Insular de Venezuela. Para esta macroregión, apenas se conocen algunos elementos preliminares del perfil epidemiológico del escorpionismo en los estados Monagas (Velásquez y Rodríguez, 1992; Tillerio y Valdiviezo, 1994; De Sousa y col., 1997; Martínez y col., 1998; Salazar, 2001; Avellaneda, 2004; De Sousa y col., 2005; Luces, 2005),

Sucre (De Sousa y col., 1996; Pérez y Velásquez, 1999; Gil y Marcano, 2003; Avellaneda, 2004; Luces, 2005; Matos, 2010; Romero, 2010), Anzoátegui (De Sousa y col., 1995; Fariñas y Liñero, 2003), Nueva Esparta (De Sousa y col., 2007a) y Delta Amacuro (Sánchez, 2010); y más recientemente, apuntando hacia la posible importancia de otros envenenamientos causados por arácnidos del Orden Araneae (Theridiidae: *Latrodectus*) (De Sousa y col., 2007b; Kiriakos y col., 2008) y de otros grupos taxonómicos incluyendo los vertebrados (Poggio, 2009; Espinoza y Quijada, 2010; Matos, 2010; Pérez y col., 2010; Ramos y Sifontes, 2010; Sánchez, 2010).

2. Desde el punto de vista toxicológico a partir del año 2000, se construye el mapa de toxicidad de la escorpiofauna de la región nororiental y se optimiza un método para determinar el curso temporal de toxicidad y la actividad biológica del veneno de varias especies de bûtidos orientales, entre ellos: *T. gonzalespongai*, *T. nororientalis*, *T. quirogae*, *T. tenuicauda* y *R. laticauda*; para lo cual se ha utilizado el ratón negro homocigoto C57BL/6, el albino homocigoto BALBc y el albino no homocigoto NMRI (Marcano y Mundaray, 2000; Marín y Rodríguez, 2000; Boadas y Marcano, 2004; Turkali, 2004; De Sousa, 2006; Cornejo, 2008; Cova, 2008; Sánquiz y González, 2008; Da Cámara y col., 2008; Hurtado y col., 2008; Aguilera y col., 2010; De Sousa y col., 2009a; De Sousa-Insana y Pino, 2009; Chadee, 2010; De Sousa y col., 2010; Romero, 2010). Se incorporaron para algunos de los índices letales precedentes, los parámetros de producción de veneno (Chinchilla y Franco, 2003; De Sousa, 2006; Cornejo, 2008; De Sousa-Insana y Pino, 2009; Aguilera y col., 2010; Chadee, 2010; Romero, 2010; De Sousa y col., 2010), sus perfiles cromatográficos (Valecillos, 2001; Jiménez y Paulo, 2001; De Sousa, 2006), patrones electroforéticos de proteínas (Borges y col., 2008;

De Sousa y col., 2010) o sus espectros de masa (De Sousa y col., 2010). A las investigaciones anteriores, Albornoz y colaboradores (2009) y Salomón (2009) anexaron estudios histopatológicos a los ensayos de letalidad y curso temporal de toxicidad aguda experimental, correlacionando, en lo posible, las alteraciones histológicas de varios órganos con los efectos de los venenos. Recientemente, De Sousa-Insana y Pino (2009) y Chadee (2010) demostraron resultados toxicológicos de diferenciación de toxicidad intersexual, obtenidos para el veneno de una población de machos y hembras de *T. nororientalis* capturados en Catuaro, estado Sucre. A los hallazgos anteriores, De Sousa y col., (2010) demostraron diferencias en toxicidad aparentemente funcional, expresadas por la neutralización desigual de las toxinas con el antiveneno y de la expresión de algunos componentes neurotóxicos evidenciados en los espectros de masa entre el veneno de machos y hembras de esta especie capturada en Catuaro. Aguilera y col. (2010) también indicaron diferencias en toxicidad intersexual para una población de *T. nororientalis* obtenida en la localidad de Las Melenas, municipio Mariño del estado Sucre.

Con la información precedente, especialmente la relacionada con la productividad del veneno y con los índices letales y el curso temporal de toxicidad aguda experimental, se pretendió proponer el mapa preliminar de toxicidad de los venenos de algunos bütidos del nororiente venezolano estudiados en el Laboratorio de Toxinología del Grupo de Investigación en Toxinología Aplicada y Animales Venenosos del Departamento de Ciencias Fisiológicas, Escuela de Ciencias de la Salud, Universidad de Oriente, Núcleo de Anzoátegui.

JUSTIFICACIÓN

El veneno de los escorpiones es uno de los más potentes que se conocen, produciendo morbi-mortalidad que amerita interés médico y de investigación (Borges y De Sousa, 2006). Una forma de abordar inicialmente su estudio es mediante la determinación de la dosis letal cincuenta (DL_{50}). Este índice representa la cantidad requerida de una droga o toxina que es capaz de producir la muerte en el cincuenta por ciento de una población de animales experimentales (Ross, 1996); su determinación es esencial para la estandarización de los venenos y antivenenos de origen natural (Sevcik, 1987). Este índice letal se puede establecer utilizando distintos métodos, entre los cuales se pueden mencionar el de Reed y Muench (1938), Dixon y Mood (1948), Beccari (1949), Lichtfield y Wilcoxon (1949), Finney (1952), Molinengo (1979) o el de Meier y Theakston (1986). Adicionalmente, los experimentos para establecer los índices letales, por normas éticas, deberían acompañarse con la evaluación del curso temporal de toxicidad y/o con el estudio de los efectos histopatológicos y de otros parámetros de interés toxicológico.

El desarrollo de este trabajo se justificó con base en acopiar toda la información disponible de investigaciones experimentales previas sobre la evaluación de la productividad de veneno y de la actividad biológica del veneno obtenido de especies venezolanas ubicadas taxonómicamente dentro de los bítidos, distribuidos en la región nororiental de Venezuela, estudiados en el Laboratorio de Toxinología del Grupo de Investigación en Toxinología Aplicada y Animales Venenosos, Departamento de Ciencias Fisiológicas, Escuela de Ciencias de la Salud, Universidad de Oriente, Núcleo de Anzoátegui.

OBJETIVOS

General

Proponer el mapa de toxicidad del veneno de algunas especies de bótidos, del nororiente de Venezuela, estudiados en el Laboratorio de Toxinología del Grupo de Investigación en Toxinología Aplicada y Animales Venenosos, Departamento de Ciencias Fisiológicas, Escuela de Ciencias de la Salud, Universidad de Oriente, Núcleo de Anzoátegui, en el periodo 2000-2010.

Específicos

1. Establecer el volumen de veneno eyectado por distintas especies de bótidos estudiados.
2. Cuantificar la cantidad de proteínas contenidas en el veneno.
3. Comparar las dosis letales cincuenta (DL_{50}) del veneno de los bótidos estudiados.
4. Comparar los signos clínicos y el curso temporal de aparición de las manifestaciones clínicas inducidas como efecto de la inyección intraperitoneal de dosis controladas de veneno de los bótidos evaluados.
5. Clasificar la actividad toxico/biológica del veneno de los bótidos evaluados en el Laboratorio de Toxinología del Grupo de Investigación en Toxinología Aplicada y de Animales Venenosos, Sección de Farmacología, Departamento de Ciencias Fisiológicas Escuela de Ciencias de la Salud, Universidad de Oriente, Núcleo de Anzoátegui.

MATERIALES Y METODOS

Tipo de investigación

La investigación fue de tipo exploratoria con diseño documental basado en la revisión de la información relacionada con los parámetros de productividad del veneno de varias especies de bítidos del nororiente; así como de sus índices letales y del curso temporal de toxicidad aguda experimental causado por los venenos de varias especies de escorpiones evaluados en el Laboratorio de Toxinología del Grupo de Investigación en Toxinología Aplicada y Animales Venenosos del Departamento de Ciencias Fisiológicas, Escuela de Ciencias de la Salud, Universidad de Oriente, Núcleo de Anzoátegui.

Población y muestra

De las 11 especies de *Tityus* del nororiente venezolano, descritas al presente, se han estudiado en el Laboratorio de Toxinología los venenos de *T. quirogae*, *T. nororientalis*, *T. gonzalespongai*, *T. tenuicauda* y adicionalmente el veneno de otro bítido como *R. laticauda*, especie de baja toxicidad (Ortiz, 1985; Boadas y Marcano, 2004) y de amplia distribución geográfica en el país y en el nororiente venezolano (Manzanilla y De Sousa, 2003).

Fuente del veneno de escorpión

Las distintas especies fueron capturadas en varias localidades de su ámbito de distribución (ver tablas 1 y 2). Durante el día los escorpiones fueron ubicados bajo

troncos, en el interior de la corteza parcialmente desprendida de los árboles, en el interior de troncos en proceso de descomposición y en la base de plantas de cafeto (*Coffea arabica*) y cacao (*Theobroma cacao*) (Manzanilla y Péfaur, 2000). Durante la noche se utilizaron lámparas portátiles de luz ultravioleta (Pavan y Vachon, 1954). Trasladados al Laboratorio de Toxinología del Grupo de Investigación en Toxinología Aplicada y de Animales Venenosos, Escuela de Ciencias de la Salud, Núcleo de Anzoátegui, Universidad de Oriente, se identificaron mediante observación detallada de sus características morfológicas, empleando un microscopio estereoscópico (Leica, modelo S6E). Los artrópodos se mantuvieron vivos para la extracción de su veneno.

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 ms, generados con un neuroestimulador Phipps-Bird[®], modelo 611 (en otros casos con uno Grass[®], modelo S-D5, B-04-03954) con cinco trenes de pulsos; cada uno con un lapso de cinco a seis segundos de duración según técnica desarrollada en el Laboratorio de Alacranología, Escuela de Ciencias de la Salud, Universidad de Oriente, Núcleo de Bolívar (Quiroga y col., 1982; Parrilla-Álvarez, 1999). El veneno eyectado de los ejemplares, fue recogido de forma separada en tubos capilares de 100 µL de capacidad y luego transferido a tubos Eppendorf de 1,5 mL. El veneno fue suspendido en 1 mL de agua bidestilada y agitado en vortex (Super-Mixer[®]). Consecutivamente, centrifugado a 14 000 g (Labnet para tubos Eppendorf[®], modelo Z180M) por 20 minutos para separar restos celulares de la fase soluble que contiene las proteínas con actividad farmacológica. Se realizaron diluciones del veneno, 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 y col., 2009a, 2010).

Determinación de la concentración de proteínas

En cada veneno se determinó la concentración de proteínas en la fracción soluble, obtenida en el proceso de centrifugación, mediante lectura de absorbancia en un espectrofotómetro Jenway[®], modelo 6405 UV/vis, a una longitud de onda de 280 nm, asumiendo que 1 unidad de absorbancia (a esta longitud) representó una concentración de 1 mg mL⁻¹ (Possani y col., 1977; Parrilla, 1999) (ésta fue verificada con una curva de calibración). Se almacenó el veneno en alícuotas de 1 mL, 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 y col., 2009a, 2010).

Fuente de los animales de experimentación

Se utilizaron ratones hembra, cepa C57BL/6 (según método estandarizado por Parrilla, 1999; De Sousa y col., 2009a, 2010), adquiridas en el Bioterio del Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas (IVIC) y disponibles en el Área de Toxinología del Grupo de Investigación en Toxinología Aplicada y Animales Venenosos. 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 y col., 2009a, 2010); por lo cual, todas las investigaciones previas realizadas en el Laboratorio de Toxinología del Grupo de Investigación en Toxinología Aplicada y Animales Venenosos, Sección de Farmacología del Departamento de Ciencias Fisiológicas, Escuela de Ciencias de la Salud, Universidad de Oriente, Núcleo de Anzoátegui, siguieron los lineamientos éticos relacionados con experimentación animal.

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

Las DL_{50} , para una hora de experimentación, del veneno de las distintas especies de bútidios nororientales (tabla 2) se determinaron por el método secuencial de Dixon y Mood (1948), modificado por Sevcik (1987).

El veneno fue inyectado, por vía intraperitoneal (vip), con una microjeringa Hamilton[®] de 50 μ L de capacidad, en ratones hembra C57BL/6. Las dosis administradas se calcularon según el peso (balanza digital, Denver Instrument[®], modelo XS-3009 precisión 0,01 g) de cada animal experimental. Para la administración del veneno de las distintas especies de *Tityus* (Scorpiones, Buthidae) del nororiente venezolano se prosiguió con el siguiente esquema de trabajo: en el primer ratón C57BL/6, por vip, se utilizó una dosis inicial de $Anti\text{-log } X_1 = 1,00$ (10,00 μ g.g⁻¹ de ratón) [en el caso de *R. laticauda* $Anti\text{-log } X_1 = 1,80$ (63,09 μ g.g⁻¹ de ratón)]. Si este primer animal respondió con la muerte, el segundo ratón recibiría una dosis X_2 calculada como $Anti\text{-log}(X_1) - d$, donde d es un factor constante también

establecido por experiencia previa ($d = 0,05$); en cambio, si el primer animal se mantiene vivo, entonces, el segundo recibiría una dosis X_2 calculada como $Anti\text{-log}(X_1) + d$. El procedimiento continuó y la dosis del siguiente animal será: $X_n = Anti\text{-log}(X_{n-1}) - d$ o $X_n = Anti\text{-log}(X_{n-1}) + d$ si el animal no murió o se mantuvo vivo durante los 60 minutos de duración del experimento. La corrida válida se consideró completa al obtener cuatro ciclos muerte-no muerte o no muerte-muerte [$\dagger 0 \dagger 0 \dagger 0 \dagger 0 \dagger \otimes$, ó $0 \dagger 0 \dagger 0 \dagger 0 \dagger 0 \otimes$; donde \dagger indica muerte, 0 supervivencia y \otimes la dosis que debería ser administrada al siguiente animal (punto final)].

Para establecer las DL_{50} se calcularon las medianas de las dosis a partir del primer punto de inflexión que incluyó además el valor de la dosis que recibiría el siguiente animal [punto final: \otimes] (De Sousa, 2006; De Sousa y col., 2009a, 2010).

Los signos clínicos expresados como efecto de toxicidad aguda experimental inducida por la inyección intraperitoneal del veneno de cada uno de los bütidos, fueron observados meticulosamente durante los 60 minutos de experimentación y tabulados cronológicamente.

Los ratones sobrevivientes, al finalizar el tiempo establecido de observación, fueron sacrificados por inhalación de vapores de cloroformo y más recientemente por dislocación cervical. En todos los casos, se utilizó un animal testigo al cual se administró solución fisiológica en volumen similar al del grupo experimental (De Sousa, 2006; De Sousa y col., 2009a, 2010).

Criterios de Inclusión

Resultados de ejemplares (hembras) de especies de bütidos distribuidos en el nororiente de Venezuela, cuyo veneno haya sido evaluado en el Laboratorio de Toxinología del Grupo de Investigación en Toxinología Aplicada y Animales

Venenosos, Escuela de Ciencias de la Salud, Universidad de Oriente, Núcleo de Anzoátegui, mediante (a) productividad de veneno por estimulación eléctrica y/o (b) actividad biológica *in vivo*, siguiendo los siguientes parámetros: (1) determinación de la DL_{50} del veneno por el método secuencial de Dixon y Mood (1948) modificado (Sevcik, 1987), (2) para una hora de experimentación, (3) con administración por vía intraperitoneal y (4) en ratones hembra cepa C57BL/6 (ver tabla 3 de la sección de resultados y discusión).

Criterios de Exclusión

Resultados de ejemplares (hembras y/o machos) de especies de bítidos distribuidos en el nororiente de Venezuela (o de bítidos de otras regiones venezolanas), cuyos venenos no haya sido evaluado 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, Núcleo de Anzoátegui. Determinación de la productividad de veneno eyectado por los artrópodos por un método distinto a la estimulación eléctrica y de la actividad biológica *in vivo* distinta al de Dixon y Mood (1948) modificado (Sevcik, 1987). Utilización de ratones (machos o hembras) diferentes a la cepa C57BL/6 o a la administración del veneno por vía subcutánea, intravenosa o intracisterna magna o lapsos de experimentación menores o mayores a 60 minutos (ver tabla 4 de la sección de resultados y discusión).

Análisis estadísticos

El programa Excel V-5.1 (Microsoft Corporation[®], 2002) se utilizó en todos los casos para automatizar los cálculos y para elaborar las gráficas de las DL_{50} . Todos los resultados experimentales se procesaron por métodos estadísticos: (a) paramétricos,

por calculo de diferencias de proporciones (valor de Z) con muestreo independiente para valorar la productividad de veneno con un nivel de significación $p < 0,05$ (Glantz, 2002) y (b) no paramétricos o de libre distribución mediante el calculo de medianas de los datos válidos a partir del punto de inflexión, según Hodges y Lehmann y sus límites de confianza (entre paréntesis) al 95% de certeza para la DL_{50} y para el tiempo de aparición de los signos de toxicidad aguda experimental. Las diferencias entre las medianas fueron probadas por la técnica de análisis de variancia de Kruskal-Wallis, con un nivel de significación $p < 0,05$ (De Sousa, 2006; De Sousa y col., 2009a, 2010).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Conceptos preliminares para clasificar la toxicidad del veneno de algunos bítidos nororientales

Para clasificar la actividad tóxica de algunos bítidos del nororiente de Venezuela se utilizaron las siguientes estrategias:

1. Se siguieron los lineamientos de investigación en Toxinología según el Código de Ética de la *IST (International Society on Toxinology)* como fue descrito en materiales y métodos (fuente de los animales de experimentación) y, adicionalmente, se tomaron en cuenta los conceptos emitidos por Nishikawa y sus colaboradores (1994); quienes evaluaron la reactividad antigénica cruzada y la letalidad del veneno de siete especies de escorpiones de varias regiones de Brasil. Los autores indicaron que los venenos de *T. bahiensis*, *T. serrulatus*, *T. costatus* y *T. stigmurus* fueron muy tóxicos para los ratones mientras que el veneno de *T. cambridgei* fue moderadamente tóxico y los de *R. agamemnom* y *Broteas amazonicus* poco tóxicos. El mismo trabajo indicó, cuando se realizaron las pruebas de toxicidad en cobayos, que el veneno de *T. bahiensis* poseía una dosis mínima letal, alrededor de 126 μg por animal; más tóxico que el de *T. serrulatus* con una dosis mínima letal de unos 250 μg por animal; mientras que el de *T. cambridgei* no fue tóxico. En dicho estudio la neutralización *in vivo* de los venenos de *T. costatus*, *T. stigmurus*, *T. cambridgei*, *R. agamemnom* y *B. amazonicus* no fue realizado por los siguientes motivos: (a) los accidentes atribuidos a estos escorpiones representan alrededor del 20% del total de casos notificados, (b) los venenos de esos escorpiones contienen componentes inmunoquímicos comunes descubiertos por la presencia de anticuerpos en el antiveneno (*T. serrulatus* y

T. bahiensis) y (c) los venenos de algunos de estos escorpiones; por ejemplo de *T. cambridgei*, *R. agamemnom* y *B. amazonicus*, tienen muy baja toxicidad en ratones; necesitando por lo tanto grandes cantidades de veneno y de ratones para realizar los experimentos de neutralización *in vivo*. Por lo tanto, los autores concluyeron que los datos científicos que pudieran ser obtenidos con estos experimentos, además de ser poco éticos desde el punto de vista que el número de escorpiones necesarios para obtener veneno y el de ratones requeridos seguramente serían enormes y además inútiles para la estandarización de antiveneno.

2. Para comparar la productividad y la actividad biológica *in vivo* del veneno de algunos búlidos nororientales evaluados en el Laboratorio de Toxinología del Grupo de Investigaciones en Toxinología Aplicada y Animales Venenosos del Departamento de Ciencias Fisiológicas, Escuela de Ciencias de la Salud, Universidad de Oriente, Núcleo de Anzoátegui, se localizaron 26 trabajos [ascenso = 3, publicaciones = 3 y de grado = 20 (bachillerato = 2, pregrado = 16 y maestría = 2)], en la hemeroteca del grupo, relacionados con la toxinología del veneno de siete búlidos venezolanos, a saber: *T. quirogae*, *T. gonzalespongai*, *T. nororientalis*, *T. tenuicauda*, *T. discrepans*, *T. zulianus* y *R. laticauda*; todos distribuidos en el nororiente de Venezuela con excepción de *T. discrepans* y *T. zulianus*; y haciendo la salvedad, que *R. laticauda* es la especie de mayor distribución en el territorio de Venezuela (tabla 2).

Aplicando los criterios de exclusión se eliminaron 13 trabajos (tabla 4); algunos de los cuales evaluaron las dosis subletales o el perfil cromatográfico del veneno de varias especies o evaluaron exclusivamente el veneno de ejemplares machos de alguna de las especies, o en su defecto el veneno obtenido por el método de estimulación manual de especies distribuidas en áreas distintas a la nororiental o la utilización de cepas de ratones albinos

(NMRI o BALBc) investigando los efectos histopatológicos inducidos por toxicidad aguda experimental. En la tabla 3, se presentan los 13 escritos que cumplieron con los criterios de inclusión para proponer el mapa de toxicidad.

Para proponer el mapa de toxicidad, los resultados se comparan, en detalle, entre los obtenidos con el veneno de *T. nororientalis* capturados en su localidad tipo ubicada en Catuaro, municipio Ribero del estado Sucre (De Sousa-Insana y Pino, 2009; Chadee, 2010; Romero, 2010; De Sousa y col., 2010) y el de *R. laticauda* capturados en el noreste del estado Anzoátegui (Boadas y Marcano, 2004).

Tabla 2. Datos geográficos de captura de especies de bütidos utilizados en distintos trabajos para la evaluación de la productividad de veneno, cálculo del índice letal, evaluación del curso temporal de toxicidad aguda experimental y perfiles cromatográficos o espectros de masa de algunas toxinas contenidas en los venenos evaluados en el Laboratorio de Toxinología, Grupo de Investigaciones en Ciencias de la Salud (nota: las referencias se organizaron cronológicamente).

ESPECIE	LOCALIDAD DE CAPTURA	ALTITUD (msnm)	MUNICIPIO	ESTADO	REFERENCIA
	COORDENADAS GEOGRÁFICAS				
<i>T. quirogae</i>	Sabana de Piedra 10°14'06''N, 63°32'00''W	1.172	Caripe	Monagas	De Sousa, 2000
<i>T. gonzalespongai</i>	La Piedra, Mundo Nuevo 10°00'09,2''N, 64°07'45,4''W	1.600	Freites	Anzoátegui	
<i>T. quirogae</i>	Sabana de Piedra 10°14'06''N, 63°32'00''W	1.172	Caripe	Monagas	Marcano y Mundaray, 2000
<i>T. nororientalis</i>	Sabana de Piedra 10°14'06''N, 63°32'00''W	1.172	Caripe	Monagas	Marín y Rodríguez, 2000
<i>T. quirogae</i>	Sabana de Piedra 10°14'06''N, 63°32'00''W	1.172	Caripe	Monagas	Pérez Di Gaeta, 2001
<i>T. nororientalis</i>	Sabana de Piedra 10°14'06''N, 63°32'00''W	1.172	Caripe	Monagas	
<i>T. gonzalespongai</i>	La Piedra, Mundo Nuevo 10°00'09,2''N, 64°07'45,4''W	1.600	Freites	Anzoátegui	Jiménez y Paulo, 2001

<i>T. quirogae</i>	La Guanota 10°18'29''N, 63°36'36''W	360	Caripe	Monagas	Valecillos, 2001
<i>T. gonzalespongai</i>	La Piedra, Mundo Nuevo 10°00'09,2''N, 64°07'45,4''W	1.600	Freites	Anzoátegui	De Sousa, 2002
<i>T. quirogae</i>	La Guanota 10°18'29''N, 63°36'36''W	360	Caripe	Monagas	Chinchilla y Franco, 2003
<i>T. gonzalespongai</i>	La Piedra, Mundo Nuevo 10°00'09,2''N, 64°07'45,4''W	1.600	Freites	Anzoátegui	
<i>T. nororientalis</i>	El Toyano 10°07'26''N, 64°29'39''W	856	Sotillo	Anzoátegui	
<i>R. laticauda</i>	UDO, Núcleo Anzoátegui		Bolívar	Anzoátegui	Boadas y Marcano, 2004
<i>T. nororientalis</i>	El Toyano 10°07'26''N, 64°29'39''W	856	Sotillo	Anzoátegui	Turkali, 2004
<i>T. quirogae</i>	La Guanota 10°18'29''N, 63°36'36''W	360	Caripe	Monagas	
<i>T. quirogae</i>	El Toyano 10°07'26''N, 64°29'39''W	856	Sotillo	Anzoátegui	De Sousa, 2006
<i>T. quirogae</i>	Sima Los Escorpiones, El Toyano 10°08'01''N, 64°28'28''W	720	Sotillo	Anzoátegui	
<i>T. nororientalis</i>	El Toyano 10°07'26''N, 64°29'39''W	856	Sotillo	Anzoátegui	Borges y col., 2008
<i>T. nororientalis</i>	Sabana de Piedra 10°14'06''N, 63°32'00''W	1.172	Caripe	Monagas	
<i>T. discrepans</i>	San Antonio de Los Altos (10°20'N, 67°,45'W)		Los Sálías	Miranda	
<i>T. quirogae</i>	La Guanota 10°18'29''N, 63°36'36''W	360	Caripe	Monagas	Chique, 2008
<i>T. gonzalespongai</i>	La Piedra, Mundo Nuevo 10°00'09,2''N, 64°07'45,4''W	1.600	Freites	Anzoátegui	
<i>T. nororientalis</i>	Las Melenas 10°40'57''N, 62°37'17''W;	785	Mariño	Sucre	
<i>T. discrepans</i>	San Antonio de Los Altos (10°20'N, 67°,45'W)		Los Sálías	Miranda	Cova, 2008
<i>T. zulianus</i>	Santa Cruz de Mora, zona sur del Lago de Maracaibo 8°22'N, 71°43'W,		Pinto Salinas	Mérida	

<i>T. nororientalis</i>	Las Melenas 10°40'57''N, 62°37'17''W;	785	Mariño	Sucre	
<i>T. tenuicauda</i>	Las Melenas 10°40'57''N, 62°37'17''W;	785	Mariño	Sucre	Cornejo, 2008
<i>T. nororientalis</i>	Las Melenas 10°40'57''N, 62°37'17''W;	785	Mariño	Sucre	Da Cámara y col., 2008
<i>T. nororientalis</i>	Las Melenas 10°40'57''N, 62°37'17''W;	785	Mariño	Sucre	Hurtado y col., 2008
<i>T. nororientalis</i>	Las Melenas 10°40'57''N, 62°37'17''W;	785	Mariño	Sucre	Sanquíz y González, 2008
<i>T. gonzalespongai</i>	La Piedra, Mundo Nuevo 10°00'09,2''N, 64°07'45,4''W	1.600	Freites	Anzoátegui	De Sousa y col., 2009
<i>T. nororientalis</i>	Las Melenas 10°40'57''N, 62°37'17''W;	785	Mariño	Sucre	Albornoz y col., 2009
<i>T. nororientalis</i>	Las Melenas 10°40'57''N, 62°37'17''W;	785	Mariño	Sucre	Salomón y col., 2009
<i>T. nororientalis</i>	Catuario 10°23'59,1''N, 63°30'00,6''W	455	Ribero	Sucre	De Sousa-Insana y Pino, 2009
<i>T. nororientalis</i>	Catuario 10°23'59,1''N, 63°30'00,6''W	455	Ribero	Sucre	Chadee, 2010
<i>T. nororientalis</i>	Catuario 10°23'59,1''N, 63°30'00,6''W	455	Ribero	Sucre	
<i>T. nororientalis</i>	Altos de Sucre 10°13'07''N, 64°28'30''W	805	Sucre	Sucre	Romero, 2010
<i>T. nororientalis</i>	Las Melenas 10°40'57''N, 62°37'17''W;	785	Mariño	Sucre	
<i>T. nororientalis</i>	Las Melenas 10°40'57''N, 62°37'17''W;	785	Mariño	Sucre	Aguilera y col., 2010
<i>T. nororientalis</i>	Catuario 10°23'59,1''N, 63°30'00,6''W	455	Ribero	Sucre	De Sousa y col., 2010

Tabla 3. Criterios de inclusión de distintos trabajos, evaluados en el Laboratorio de Toxinología, Grupo de Investigaciones en Toxinología Aplicada y Animales Venenosos, Departamento de Ciencias Fisiológicas, Escuela de Ciencias de la Salud, que cumplieron los requisitos.

REFERENCIA	MOTIVO DE INCLUSIÓN
Marcano y Mundaray, 2000	Determinación de la DL ₅₀ del veneno de ejemplares de <i>T. quirogae</i> capturados en Sabana de Piedra, Caripe, Monagas
Marín y Rodríguez, 2000	Determinación de la DL ₅₀ del veneno de <i>T. nororientalis</i> capturados en Sabana de Piedra, Caripe, Monagas
De Sousa, 2002	Evaluación de la productividad del veneno de <i>T. gonzalespongai</i>
Chinchilla y Franco, 2003	Evaluación de la productividad de los venenos de <i>T. quirogae</i> , <i>T. gonzalespongai</i> y <i>T. nororientalis</i>
Boadas y Marcano, 2004	Determinación de la DL ₅₀ y de la productividad del veneno de <i>R. laticauda</i> capturados en la región noreste del estado Anzoátegui
Turkali, 2004	Determinación de la DL ₅₀ del veneno de <i>T. nororientalis</i> capturados en El Toyano, municipio Sotillo, Anzoátegui
De Sousa, 2006	Determinación de las DL ₅₀ y de la productividad del veneno de <i>T. quirogae</i> capturados en tres localidades del nororiente de Venezuela
De Sousa y col., 2009	Determinación de la DL ₅₀ del veneno de <i>T. gonzalespongai</i>
De Sousa-Insana y Pino, 2009	Determinación de toxicidad diferencial y productividad del veneno de machos y hembras de <i>T. nororientalis</i> capturados en Catuaro, Ribero, Sucre
Chadee, 2010	Determinación de toxicidad diferencial y productividad del veneno de machos y hembras de <i>T. nororientalis</i> capturados en Catuaro, Ribero, Sucre
Romero, 2010	Determinación de las DL ₅₀ y de la productividad del veneno de tres poblaciones de <i>T. nororientales</i> capturados en tres localidades nororientales
Aguilera y col., 2010	Determinación de toxicidad diferencial entre el veneno de machos y hembras de <i>T. nororientalis</i> capturados en Las Melenas, municipio Mariño, Sucre
De Sousa y col., 2010	Determinación de toxicidad diferencial, productividad, espectros de masa y actividad funcional entre el veneno de machos y hembras de <i>T. nororientalis</i> capturados en Catuaro, municipio Ribero, Sucre

Tabla 4. Criterios de exclusión de distintos trabajos, evaluados en el Laboratorio de Toxinología, Grupo de Investigaciones en Toxinología Aplicada y Animales Venenosos, Departamento de Ciencias Fisiológicas, Escuela de Ciencias de la Salud, que no cumplieron los requisitos.

REFERENCIA	MOTIVO DE EXCLUSIÓN
De Sousa, 2000 Pérez Di Gaeta, 2001	Evaluación de dosis subletales del veneno de <i>T. quirogae</i> , <i>T. gonzalespongai</i> y <i>T. nororientalis</i> ; calculadas a partir de sus DL ₅₀
Jiménez y Paulo, 2001 Valecillos, 2001	Determinación de los perfiles cromatográficos, por exclusión por peso molecular, en columna de vidrio, de los venenos de <i>T. gonzalespongai</i> y <i>T. quirogae</i>
Borges y col., 2008	Evaluación de los patrones electroforéticos del veneno de <i>T. nororientalis</i> capturados en dos localidades de los estados Anzoátegui y Monagas
Cornejo, 2008	Determinación de la DL ₅₀ del veneno de ejemplares machos de <i>T. tenuicauda</i> capturados en Las Melenas, municipio Mariño, estado Sucre
Chique, 2008	Determinación de los perfiles cromatográficos, por exclusión en equipo HPLC, de los venenos de <i>T. quirogae</i> , <i>T. gonzalespongai</i> , <i>T. nororientalis</i> y <i>T. discrepans</i>
Cova, 2008	Determinación de las DL ₅₀ del veneno, obtenido por método distinto a la estimulación eléctrica, de bütidos (<i>T. discrepans</i> y <i>T. zulianus</i>) distribuidos en otras regiones de Venezuela
Da Cámara y col., 2008	
Hurtado y col., 2008 Sanquíz y González, 2008	Determinación de las DL ₅₀ del veneno de <i>T. nororientalis</i> en cepas de ratones albinos (NMRI y BALBc)
Albornoz y col., 2009 Salomón y col., 2009	Evaluación de los cambios histopatológicos, en órganos de ratones, sometidos al efecto de una DL ₅₀ del veneno de <i>T. nororientalis</i>

Productividad de veneno

Los 111 ejemplares de *R. laticauda*, por estimulación eléctrica, produjeron 26,12 mg de proteínas y un volumen total de 227,28 μL . Cada escorpión en promedio, para peso y volumen, originó 0,24 mg en 2,07 μL ; dando una concentración de veneno de 0,12 mg/ μL (Boadas y Marcano, 2004) (tabla 5). Cuando se comparan estos datos con los obtenidos con los del veneno de *T. nororientalis* de Catuaro (De Sousa-Insana y García, 2009, Chadee, 2010; De Sousa y col., 2010); *R. laticauda* es un escorpión de baja productividad (tabla 5).

Tabla 5. Comparación de los datos de productividad del veneno, obtenido por estimulación eléctrica, de *Tityus nororientalis* y *Rhopalurus laticauda*.

Especie	n (†)	Volumen (μL)	$\mu\text{L}/\text{escorpión}$	Total proteínas (mg)	mg/escorpión	Concentración por escorpión (mg/ μL)
<i>T. nororientalis</i>	21	64,78	3,40	30,44	1,45	0,43
<i>R. laticauda</i>	110	227,28	2,07	26,12	0,24	0,12

†: Número de ejemplares procesados

Toxicidad del veneno

En la tabla 6 se presentan los datos necesarios para caracterizar el veneno de *T. nororientalis* (De Sousa- Insana y Pino, 2009; Chadee, 2010; De Sousa y col., 2010) como de alta toxicidad al compararse con los datos de la tabla 7 para el cálculo de la DL_{50} del veneno de ejemplares de *R. laticauda* como de baja toxicidad en ratones C57BL/6 (tabla 7) (Boadas y Marcano, 2004), observados durante 60 minutos.

El total de ratones C57BL/6 para evaluar el veneno de ejemplares hembra de *Tityus nororientalis* fue $n = 13$ [corrida no válida + corrida válida + siguiente animal (punto final)] (tabla 6) y el total de ratones para evaluar el veneno de ejemplares (machos y hembras) de *Rhopalurus laticauda* fue $n = 15$ [corrida no válida + corrida válida + siguiente animal (punto final)] (tabla 7). Para calcular la DL_{50} , del veneno de *Tityus nororientalis*, fue desde R_2 hasta $R_{12} + R_{13}$ (punto final) [$n = 12$]; y, para evaluar los signos de toxicidad aguda experimental desde R_2 hasta R_{12} [$n = 11$] (tabla 6). En cuanto a *Rhopalurus laticauda* la corrida válida fue desde R_3 hasta $R_{14} + R_{15}$ (punto final) [$n = 13$]; y para los signos de toxicidad aguda experimental desde R_3 hasta R_{14} [$n = 12$] (tabla 7).

El primer punto de inflexión (fenómeno muerte – no muerte o no muerte – muerte) con el veneno de *T. nororientalis* se ubicó en R_2 (tabla 5), mientras que con el veneno de *R. laticauda* en R_3 (tabla 7)

El primer punto de inflexión (R_2) con el veneno de *T. nororientalis* (tabla 6) se obtuvo con un consumo de 0,39 mg (394,1 μ g) de proteínas de proteínas contenidas en el veneno (tabla 6) y con el de *Rhopalurus laticauda* (en R_3) con la administración de 7,36 mg (7361,84 μ g) (tabla 7).

La cantidad total de veneno de *T. nororientalis*, utilizada en la experiencia, fue de 2,2 mg (2163,66 μ g), en doce ratones, para obtener la DL_{50} (tabla 6). Comparado con esta cantidad de veneno, la cuantía total de veneno de *R. laticauda* tuvo un gasto global 21,4 mg (21 367,72 μ g) de proteínas, en 14 ratones (corrida no válida y corrida válida), para la DL_{50} (tabla7).

Tabla 6. Datos para el cálculo de la DL_{50} del veneno de ejemplares hembra de *Tityus nororientalis* en ratones C57BL/6, administrado por vía intraperitoneal, para una hora de observación (De Sousa-Insana y Pino, 2009; Chadee, 2010; Romero, 2010; De Sousa y col., 2010).

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

Control: R_{14} = 19,02 g de peso corporal; inyectado vip con 100 μL de solución fisiológica.

†: Ratón con *exitus letalis*.

⊗ Punto final

Tabla 7. Datos para el cálculo de la DL_{50} del veneno de *R. laticauda* en ratones C57BL/6, administrado por vía intraperitoneal, para una hora de observación (Boadas y Marcano, 2004).

RATÓN (n)	PESO (g)	DOSIS (Anti-Log)	DOSIS ($\mu\text{g g}^{-1}$)	DOSIS TOTAL (μg)	VOLUMEN (μl)	MUERTE (minutos)
CORRIDA NO VÁLIDA						
1	16,56	2,00	100,00	1656,00	153,7	†: 49
2	15,05	1,95	89,13	1341,42	124,5	†: 57
			Sub-total	2997,42	278,2	
CORRIDA VÁLIDA						
3	17,21	1,90	79,43	1367,00	126,87	0
4	15,01	1,95	89,13	1337,84	124,16	0
5	15,99	2,00	100,00	1599,00	148,40	0
6	14,55	2,05	112,20	1632,51	161,47	†: 55
7	15,24	2,00	100,00	1524,00	150,74	†: 52
8	13,38	1,95	89,13	1192,56	117,96	0
9	13,83	2,00	100,00	1383,00	136,80	0
10	12,04	2,05	112,20	1350,91	133,52	0
11	14,64	2,10	125,89	1843,03	295,35	†: 58
12	13,12	2,05	112,20	1472,09	235,91	0
13	15,61	2,10	125,89	1965,14	552,00	†: 29
14	15,18	2,05	112,20	1703,22	478,43	0
			Sub-total	18 370,30	2.661,61	
			Total	21 367,72	2.939,81	
SIGUIENTE ANIMAL						
15		2,10	125,89			⊗

Control: $R_{16} = 13,80$ g de peso corporal; inyectado vip con 100 μL de solución fisiológica.

†: Ratón con *exitus letalis*.

⊗ Punto final

Con el veneno de los escorpiones hembra de *T. nororientalis* la mayor regularidad de muerte ($n = 4$; 80,0%) ocurrió con $10,00 \mu\text{g g}^{-1}$. Con $8,91 \mu\text{g.g}^{-1}$, la frecuencia fue baja ($n = 1$; 20,0%) y con $7,94 \mu\text{g g}^{-1}$ no ocurrió mortalidad (tabla 8). Con el veneno de *R. laticauda* (tabla 9) la mayor letalidad ($n = 2$; 50,0%) ocurrió con $125,89 \mu\text{g g}^{-1}$; mientras que con $100,0$ y $112,20 \mu\text{g g}^{-1}$, la frecuencia fue baja (respectivamente; $n = 1$; 25,0%). Con la dosis de $79,43$ y $89,13 \mu\text{g.g}^{-1}$ no ocurrió mortalidad.

La tabla 10 compara las frecuencias de muerte y las secuencias de las dosis administradas, por vía intraperitoneal, en las corridas válidas, de *T. nororientalis* (De Sousa-Insana y Pino, 2009; Chadee, 2010; De Sousa y col., 2010) y *R. laticuda* (Boadas y Marcano, 2004) en el modelo múrido C57BL/6. La letalidad se obtuvo con menores dosis del veneno de *T. nororientalis*.

La DL_{50} [$106,01$ ($100,00 - 112,95$) $\mu\text{g. g}^{-1}$ de ratón] del veneno de *R. laticauda* fue significativamente de menor potencia (Kruskall-Wallis = 18,95; $p = 0,00001$) que la DL_{50} [$= 9,46$ ($8,91 - 9,46$) $\mu\text{g.g}^{-1}$ de ratón] del veneno de *T. nororientalis* (figura 1).

Tabla 8. Frecuencia de muerte y secuencia de dosis administradas, por vía intraperitoneal, del veneno de ejemplares hembra de *Tityus nororientalis* en el modelo mrido C57BL/6 (De Sousa-Insana y Pino, 2009; Chadee, 2010; Romero, 2010; De Sousa y col., 2010).

RATON	Anti-log Dosis µg/ g de ratón		
	0,90 7,94 µg g ⁻¹	0,95 8,91 µg g ⁻¹	1,00 10,00 µg g ⁻¹
CORRIDA NO VÁLIDA			
1			†: 50
CORRIDA VÁLIDA			
2		0	
3			†: 44
4		0	
5			†: 30
6		0	
7			†: 44
8		†: 50	
9	0		
10		0	
11			†: 36
12		0	
SIGUIENTE ANIMAL			
13			⊗
FRECUENCIA DE MUERTE [†]			
CORRIDA VÁLIDA n = 5 100%	0 0,0%	1 20,0%	4 80,0%

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

Tabla 9. Frecuencia de muerte y secuencia de dosis administradas, por vía intraperitoneal, del veneno de *R. laticuda* en el modelo mrido C57BL/6 (Boadas y Marcano, 2004).

RATON	Anti-log Dosis $\mu\text{g g}^{-1}$ de ratón				
	1,90 $79,43 \mu\text{g g}^{-1}$	1,95 $89,13 \mu\text{g g}^{-1}$	2,00 $100,0 \mu\text{g g}^{-1}$	2,05 $112,20 \mu\text{g g}^{-1}$	2,10 $125,89 \mu\text{g g}^{-1}$
CORRIDA NO VÁLIDA					
1			†: 49		
2		†: 57			
CORRIDA VÁLIDA					
3	0				
4		0			
5			0		
6				†: 55	
7			†: 52		
8		0			
9			0		
10				0	
11					†: 58
12				0	
13					†: 29
14				0	
SIGUIENTE ANIMAL: PUNTO FINAL					
15					⊗
FRECUENCIA DE MUERTE [†] CORRIDA VÁLIDA n = 4 100%			1 (25%)	1 (25%)	2 (50%)

†: indica muerte

0: indica sobrevivencia

⊗: indica siguiente animal (punto final del experimento)

Tabla 10. Comparación de las frecuencias de muerte y secuencias de dosis administradas, por vía intraperitoneal, en la corrida válida, con los venenos de *T. nororientalis* (De Sousa-Insana y Pino, 2009; Chadee, 2010; Romero, 2010; De Sousa y col., 2010) y *R. laticauda* (Boadas y Marcano, 2004) en el modelo múmero C57BL/6.

Venenos ensayados									
CORRIDA VÁLIDA									
	<i>T. nororientalis</i>				<i>R. laticauda</i>				
Anti-log Dosis $\mu\text{g g}^{-1}$ de ratón	0,90 7,94	0,95 8,91	1,00 10,00	...	1,90 79,43	1,95 89,13	2,00 100,00	2,05 112,20	2,10 125,89
LETALIDAD									
N	0	1	4		0	0	1	1	2
%	0,0	20,0	80,0		0,0	0,0	25,0	20,0	50,0

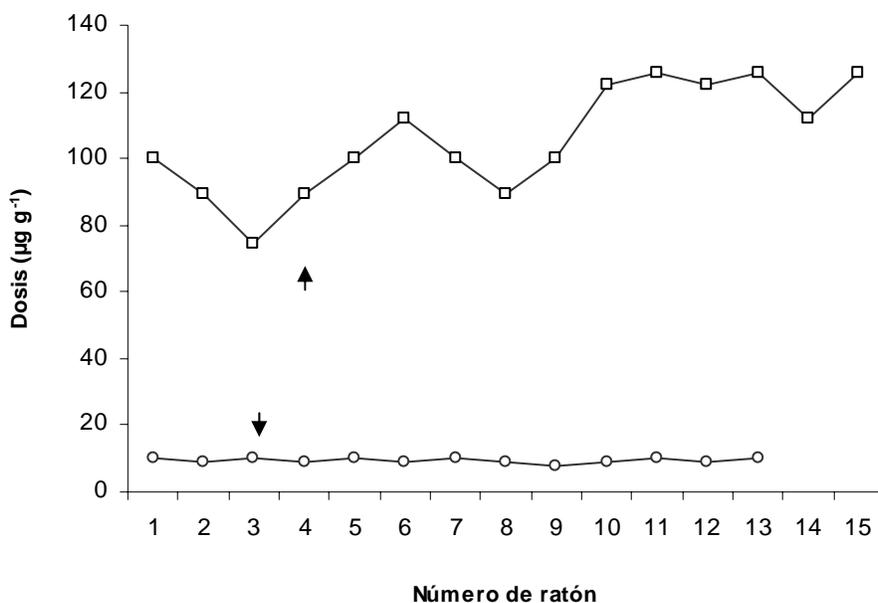


Figura 1. Comparación de las DL₅₀ de los venenos de *T. nororientalis* y *R. laticauda*.

La flecha indica el punto de inflexión e inicio de los datos válidos para el cálculo de las DL₅₀. El resultado se presenta como la mediana y sus límites para un 95% de confianza (entre paréntesis).

El punto de inflexión con el veneno de *T. nororientalis*, para iniciar la corrida válida, se obtuvo con la dosis de 8,91 µg de proteína por g de peso de ratón; mientras que con el de *R. laticauda* se obtuvo con 79,43 µg.g⁻¹ de ratón.

- La curva superior (□) representa las dosis de veneno de *R. laticauda* para obtener su índice letal: DL₅₀, vip, 60 minutos = 106,01 (100,00 – 112,95) µg.g⁻¹ de ratón. IV = 12,2% [Boadas y Marcano, 2004 (para detalles ver figura 2a)].
- La inferior (○) representa las dosis de veneno de *T. nororientalis* para obtener el índice letal: DL₅₀, vip, 60 minutos = 9,46 (8,91 – 9,46) µg.g⁻¹ de ratón. IV = 5,8% [De Sousa-Insana y Pino, 2009; Chadee, 2010; Romero, 2010; De Sousa y col., 2010 (para detalles ver figura 2b)].
- DL₅₀, veneno de *R. laticauda* 106,01 (100,00 – 112,95) µg.g⁻¹ de ratón. DL₅₀, veneno de *T. nororientalis* (♀♀) = 9,46 (8,91 – 9,46) µg.g⁻¹ de ratón; Kruskal-Wallis = 18,95; $p = 0,00001$.

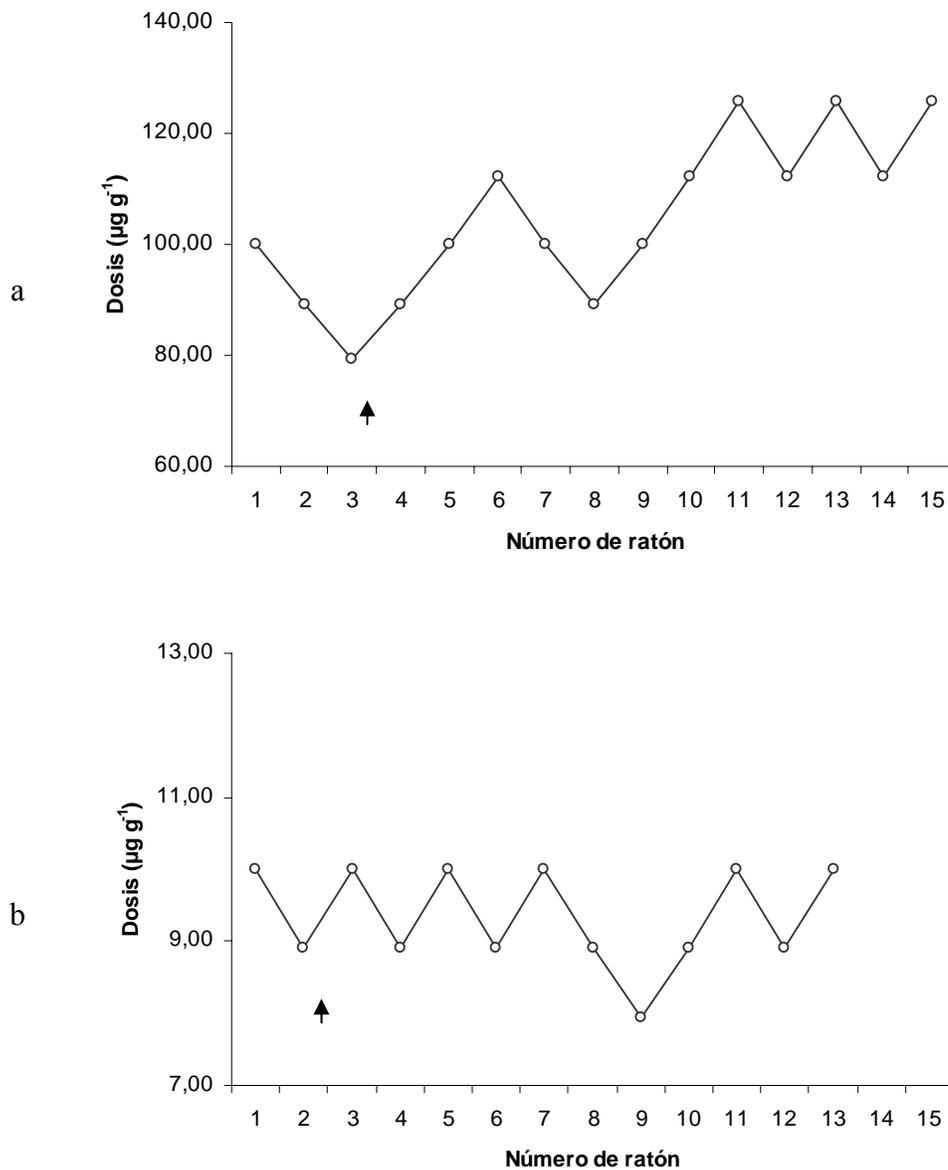


Figura 2. Comparación, en detalle, de las DL_{50} de los venenos de *R. laticauda* (2a) y de *T. nororientalis* (2b) en ratones C57BL/6.

La flecha indica el punto de inflexión e inicio de los datos válidos para el cálculo de las DL_{50} . (a): *R. laticauda* = 106,01 (100,00 – 112,95) (Boadas y Marcano, 2004) y *T. nororientalis* (♀♀) = 9,46 (8,91 – 9,46) µg g⁻¹ de ratón (De Sousa-Insana y Pino, 2009; Chadee, 2010; Romero, 2010; De Sousa y col., 2010). Kruskal-Wallis = 18,95; $p = 0,00001$.

En la tabla 11 se presentan las frecuencias y la intensidad de los signos clínicos inducidos por efecto de toxicidad aguda experimental con los venenos de *T. nororientalis* y de *R. laticauda* en ratones C57BL/6.

Con el veneno de *T. nororientalis* se observaron 27 signos y con el de *R. laticauda* 25 signos.

Los ratones, correspondientes a la corrida válida, ensayados con el veneno de *T. nororientalis* presentaron signos clínicos comunes con *R. laticauda*, en general, con mayor frecuencia de presentación y concomitantemente mayor intensidad. *T. nororientalis* presentó alteración de la marcha tipo atáxica; seguidamente signos de potente estimulación autonómica muscarínica (movimientos deglutorios, sialorrea que evolucionó de leve a abundante, secreción ocular, defecación pastosa), alteraciones del sistema nervioso central (signo de Straub, convulsiones, hipotonía tren posterior, parálisis espástica), respiratorio (bradipnea/apnea) motor (contractura piel del dorso) y exoftalmos. Con menor frecuencia deshidratación, defecación líquida, micción, relajación de esfínteres, hipotonía tren anterior.

Los ejemplares de *R. laticauda* exhibieron signos similares al de *T. nororientalis* excepto distensión abdominal, contractura de piel del dorso, parálisis espástica y deshidratación. Adicional un signo caracterizado como lordosis. En el caso de la defecación líquida, esta se manifestó con mayor frecuencia que en *T. nororientalis*. Con relación a los temblores generalizados, en *T. nororientalis* su frecuencia fue moderada pero mayor que con el veneno de *R. laticauda*.

Tabla 11. Comparación de la frecuencia e intensidad de las manifestaciones clínicas inducidas por toxicidad aguda del veneno de *Tityus nororientalis* (De Sousa-Insana y Pino, 2009; Chadee, 2010; Romero, 2010; De Sousa y col., 2010) y de *R. laticauda* (Boadas y Marcano, 2004), en ratones C57BL/6.

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

Consideraciones finales sobre la toxicidad del veneno de btidos del nororiente de Venezuela

En la tabla 12 se presentan algunos datos para el veneno de varias especies de escorpiones, de la familia Buthidae, evaluados en el Laboratorio de Toxinología del Grupo de Investigación en Toxinología Aplicada y Animales Venenosos, Sección de Farmacología del Departamento de Ciencias Fisiológicas, Escuela de Ciencias de la Salud, Universidad de oriente, Núcleo de Anzoátegui.

Los experimentos ensayando el veneno de varias especies, algunas provenientes de varias localidades, indicarían que la mayor cantidad de veneno empleado correspondió con el de *R. laticauda*; con un consumo global de 20,90 mg (20 904,48 µg) en 14 ratones (tabla 12).

Romero, en 2010, demostró cualitativamente diferencias en toxicidad, cuando fueron comparados los índices letales (DL_{50}), entre venenos obtenidos de distintas poblaciones de *T. nororientalis* (Las Melenas, Catuaro y Altos de Sucre) (tabla 13). Estos hallazgos de Romero (2010), relacionados con las evidencias presentadas en la tabla 12, indicarían dos grupos de toxicidad para el veneno de los ejemplares hembra de *T. nororientalis*: (a) uno más potente conformado por las poblaciones de escorpiones de la localidad de Las Melenas (Pensula 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). Sin embargo, el intervalo de confianza de la DL_{50} del veneno de los ejemplares de Catuaro, se ubicaría entre los dos grupos de toxicidad. Técnicas como MALDI-TOFF podrían demostrar diferencias cuantitativas entre estos venenos. De Sousa-Insana y Pino (2009) y Chadee (2010) aportaron nuevos elementos a la complejidad del veneno de *T. nororientalis*, al demostrar que el índice de letalidad en

ratones hembra C57BL/6 presenta diferencias intersexuales cuando se evaluó, por separado, el veneno proveniente de ejemplares hembras o de machos de esta especie.

Lo anterior conformaría un mapa de toxicidad entre las distintas especies de escorpiones; y dentro de un mismo taxa, dependiendo de su origen geográfico.

Tabla 12. Comparación de la actividad biológica y DL_{50} del veneno de varias especies de escorpiones evaluados en el Laboratorio de Toxinología del Grupo de Investigación en Toxinología Aplicada y de Animales Venenosos, Sección de Farmacología, Departamento de Ciencias Fisiológicas de la Escuela de Ciencias de la Salud, Universidad de oriente, Núcleo de Anzoátegui.

(Referencia): Especie Localidad municipio/Estado	Número de ratones			Veneno utilizado				DL_{50} ($mg.kg^{-1}$) LM
	Cnv n	Cv n	Tr n	Vcnv (μg)	Vcv (μg)	Vt (μg)	PI	
a <i>R. laticauda</i> , ♀♀/♂♂ UDO Bolívar, Anzoátegui	2	12	14	2997,42	18 370,3	21 367,72	1,90 79,43	106,01 100-112,94
b <i>T. quirogae</i> , ♀♀ Sima Cueva Los Escorpiones, El Toyano Sotillo, Anzoátegui	4	9	13	830,00	2042,32	2872,32	1,20 15,85	14,99 14,13-14,99
b <i>T. quirogae</i> , ♀♀ El Toyano Sotillo, Anzoátegui	2	9	11	325,11	1756,04	2081,15	1,10 12,59	12,59 11,91-13,36
c <i>T. gonzalespongai</i> , ♀♀ Caserío La Piedra, Mundo Nuevo Freites, Anzoátegui	2	11	13	379,55	2313,55	2693,1	1,10 12,59	11,91 11,22-12,59
b <i>T. quirogae</i> , ♀♀ La Guanota Caripe, Monagas	2	8	10	355,06	1423,56	1758,68	1,10 12,59	10,61 10,00-11,22)

d	<i>T. quirogae</i> , ♀♀ Sabana de Piedra Caripe, Monagas	1	10	11	185,00	1742,9	1927,9	0,95 8,91	10,00 9,46-10,60
g	<i>T. nororientalis</i> ♀♀ El Toyano Sotillo, Anzoátegui	1	9	10	161,60	1426,58	1588,18	0,95 8,91	9,46 9,46-10,00
h	<i>T. nororientalis</i> ♀♀ Altos de Sucre Sucre, Sucre	1	10	11	161,60	1607,58	1768,58	0,95 8,91	9,46 8,91-10,00
i	<i>T. nororientalis</i> , ♀♀ Catuario Ribero, Sucre	1	11	12	217,10	1946,56	2163,66	0,95 8,91	9,46 8,91-9,46
j	<i>T. nororientalis</i> , ♀♀ Sabana de Piedra Caripe, Monagas	2	10	12	240,05	1741,8	1981,85	0,90 7,94	8,43 7,94-8,91
k	<i>T. nororientalis</i> , ♀♀ Las Melenas Mariño, Sucre	2	14	16	179,80	2569,89	2749,69	0,90 7,94	8,43 7,94-8,91
l	<i>T. nororientalis</i> , ♀♀ Las Melenas Mariño, Sucre	3	16	19	533,28	2817,38	3350,66	0,85 7,08	8,43 8,00-8,54

El área gris significa veneno obtenido de los ejemplares capturados en su Localidad Tipo.

(a) Boadas y Marcano, 2004; (b) De Sousa, 2006; (c) De Sousa y col., 2009; (d) Marcano y Mundaray, 2000; (g) Turkali, 2004; (h) Romero, 2010; (i) De Sousa-Insana y Pino, 2009; Chadee, 2010; Romero, 2010; De Sousa y col, 2010; (j) Marín y Rodríguez, 2000; (k) Cova, 2008; (l) Aguilera, Curupe y Granados, 2010; Romero, 2010

Cnv: número de ratones utilizados en la corrida no válida; Cv: número de ratones utilizados en la corrida válida; Tr: total de ratones inyectados con veneno.

Vcnv: cantidad de veneno utilizado en la corrida no válida; Vcv: cantidad de veneno utilizado en la corrida válida; Vt: total de veneno administrado en cada ensayo. PI: dosis administrada en el primer punto de inflexión ($\text{Anti-log}/\mu\text{g.g}^{-1}$).

Tabla 13. Comparación de las DL₅₀ del veneno de ejemplares de *Tityus nororientalis* provenientes de varias localidades del nororiente de Venezuela (Romero, 2010)

Población de <i>Tityus nororientalis</i>	DL ₅₀		
	mg×kg ⁻¹	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	
Catuaro, Sucre (§)	♀♀ = 9,46	8,91 – 9,46	
Catuaro, 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	

* Turkali, 2004

Δ Romero, 2010

§ De Sousa-Insana y Pino, 2009; Chadee, 2010; De Sousa y col., 2010

‡ Marín y Rodríguez 2001

Finalmente, este trabajo constituye la continuidad en la adquisición de información que permitiría comprender de forma integral el escorpionismo en el nororiente de Venezuela y suplementariamente, contribuir con la elaboración del mapa de letalidad de las especies de *Tityus* venezolanos propuesto por Borges (1996) y, más recientemente, para una demarcación del país en “Provincias Toxinológicas” planteada por Borges y De Sousa (2006, 2009) y Borges *et al.* (2010a), a través de la incorporación de datos epidemiológicos, clínicos, moleculares e inmunológicos para una comprensión integral del escorpionismo como problema de salud pública en Venezuela.

CONCLUSIONES

1. Por ordeño eléctrico, *R. laticauda* en promedio originó una concentración de veneno de 0,12 mg/μL mientras que *T. nororientalis* de Catuaro produjo 0,43 mg/μL.
2. *R. laticauda* es un escorpión de baja productividad de veneno.
3. El primer punto de inflexión (fenómeno muerte – no muerte o no muerte – muerte) con el veneno de *T. nororientalis* se obtuvo con un consumo de 0,39 mg (394,1 μg) de proteínas contenidas en el veneno y con el de *R. laticauda* con la administración de 7,36 mg (7361,84 μg).
4. La cantidad total de veneno de *T. nororientalis*, utilizada en la experiencia, fue de 2,2 mg (2163,66 μg), en doce ratones, para obtener la DL₅₀; significativamente menor que la cuantía total de veneno de *R. laticauda* [21,4 mg (21 367,72 μg) de proteínas, en 14 ratones (corrida no válida y corrida válida)].
5. La letalidad se obtuvo con menores dosis del veneno de *T. nororientalis*.
6. Con el veneno de *T. nororientalis* la mayor frecuencia de muerte (n = 4; 80,0%) ocurrió con una dosis de 10,00 μg g⁻¹ de ratón, significativamente menor al de *R. laticauda* con 125,89 μg g⁻¹.
7. La DL₅₀ [106,01 (100,00 – 112,95) μg. g⁻¹ de ratón] del veneno de *R. laticauda* fue significativamente de menor potencia que la DL₅₀ [= 9,46 (8,91 – 9,46) μg.g⁻¹ de ratón] del veneno de *T. nororientalis*.
8. Los venenos de *T. nororientalis* y de *R. laticauda*, en ratones C57BL/6, inducen signos de toxicidad aguda experimental comunes; aunque con mayor frecuencia e intensidad cuando se ensayó el veneno de *T. nororientalis*.
9. Se han demostrado cualitativamente diferencias en toxicidad entre venenos obtenidos de distintas poblaciones de *T. nororientalis* y *T. quirogae*; lo que podría indicar dos grupos de toxicidad para los *Tityus* del nororiente venezolano: uno mayor potencia y otro de menor potencia.
10. Las evidencias podrían indicar la conformación de un mapa de toxicidad entre las distintas especies de escorpiones; y dentro de una misma especie, dependiendo de su origen geográfico.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aguilera R., Curupe L., Granados I. Variabilidad geográfica e intersexual del veneno de *Tityus nororientalis* (Scorpiones: Buthidae) en ratones C57BL/6. Universidad de Oriente, Núcleo de Anzoátegui, Escuela de Ciencias de la Salud, Barcelona (Trabajo de Grado), pp. 48, 2010.
- Albornoz E., Cedeño O., Pereira M. Cambios histopatológicos agudos causados por el veneno de *Tityus nororientalis* (Scorpiones: Buthidae) en miocardio de ratones NMRI, BALBc y C57BL/6. Universidad de Oriente, Núcleo de Anzoátegui, Escuela de Ciencias de la Salud, Barcelona (Trabajo de Grado), pp. 59, 2009.
- Avellaneda E. Evaluación epidemiológica de la mortalidad causada por animales venenosos en Venezuela. Periodo 1980-2000. Universidad de Oriente, Núcleo de Anzoátegui, Escuela de Medicina, Barcelona (Trabajo de Grado), pp. 68, 2004.
- Barona J., Otero R., Núñez V. Aspectos toxinológicos e inmunoquímicos del veneno de escorpión *Tityus pachyurus* Pocock de Colombia: Capacidad neutralizante de antivenenos producidos en Latinoamérica. *Biomédica*, 24: 43-49, 2004.
- Barona J., Batista C., Zamudio F., Gómez-Lagunas F., Wanke E., Otero R., Possani L. 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, 2006.
- Batista C., D'Suze G., Gómez-Laguna F., Zamudio F., Encarnación S., Sevcik C., Possani L. Proteomics analysis of *Tityus discrepans* venom and amino acid sequence of novel toxins. *Proteomics*, 6: 3718-3727, 2006.
- Beccari E. A method for reducing the number of pharmacological assays. *Nature*, 163: 534, 1949.
- Becerril B., Corona M., García C., Bolívar L., Possani L. Cloning of genes encoding scorpion toxins: an interpretative review. *Journal Toxicology Toxins Reviews*, 14: 339-357, 1995.
- Becerril B., Marangoni S., Possani L. Toxins and genes isolated from scorpions of the genus *Tityus*. *Toxicon*, 35: 821-835, 1997.

- Biondi-Queiroz I., García-Santana VP., Rodríguez DS. Estudio retrospectivo do escorpionismo na Região Metropolitana de Salvador (RSM)-Bahia, Brasil. *Sitientibus*, 15: 273-285, 1996.
- Blanco M., Rodríguez-Acosta A., Strauss M., Pulido-Méndez M., Rodríguez C., González L. Pancreas ultrastructural alterations in mice inoculated with *Tityus discrepans* (Buthidae) venom. *Journal of Submicroscopic Cytology and Pathology*, 31(1): 51-56, 1999.
- Boadas J., Marcano J. Cuantificación del volumen, cantidad de proteínas y evaluación de la toxicidad del veneno de *Rhopalurus laticauda* (Scorpiones: Buthidae). Universidad de Oriente, Núcleo de Anzoátegui, Escuela de Medicina, Barcelona (Trabajo de Grado), pp. 57, 2004.
- Borges A. Escorpionismo en Venezuela. *Acta Biológica Venezuelica*, 16(3): 65-75, 1996.
- Borges A., De Sousa L. Escorpionismo en Venezuela: Una aproximación molecular, inmunológica y epidemiológica para su estudio. *Revista Facultad de Farmacia (Caracas)*, 69:15-27, 2006.
- Borges A., Rojas-Runjaic FJM. *Tityus perijanensis* González-Sponga (Scorpiones, Buthidae): Molecular assessment of its geographical distribution and venom lethality of Venezuelan populations. *Toxicon*, 50: 1005-1010, 2007.
- Borges A., De Sousa L. Una aproximación multidisciplinaria para el estudio del envenenamiento por arácnidos en Venezuela. En: Enfoques y Temáticas en Entomología (J. Arrivillaga, M. El Souki, B. Herrera, editores). Caracas: Ediciones Astrodata, pp. 137-153. 2009.
- Borges A., Arantes EC., Giglio JR. Isolation and characterization of toxic proteins from the venom of the Venezuelan scorpion *Tityus discrepans* (KARSCH). *Toxicon*, 28: 1011-1017, 1990.
- Borges A., Tsushima RG., Backx PH. Antibodies against *Tityus discrepans* venom do not abolish the effect of *Tityus serrulatus* venom on the rat sodium and potassium channels. *Toxicon*, 37: 867-881, 1999.
- Borges A., Arandia J., Colmenares-Árias Z., Vargas A., Alfonso M. Caracterización epidemiológica y toxicológica del envenenamiento por *Tityus zulianus* (Scorpiones, Buthidae) en el estado Mérida, Venezuela. *Revista Facultad de Medicina (Caracas)*, 25: 76-79, 2002.

- Borges A., Alfonzo M., García C., Winand N., Leipold E., Heinemann S. Isolation, molecular cloning and functional characterization of a novel β -toxin from the Venezuelan scorpion, *Tityus zulianus*. *Toxicon*, 43: 671-684, 2004a.
- Borges A., Trejo E., Vargas A., Céspedes G., Hernández A., Alfonzo M. Pancreatic toxicity in mice elicited by *Tityus zulianus* and *Tityus discrepans* scorpion venom. *Investigación Clínica*, 45(3): 269-276, 2004b.
- Borges A., Lugo E., Rojas F., García C. Toxicidad del veneno de *Tityus perijanensis* y neutralización por el antiveneno anti-*Tityus discrepans*. *Acta Científica Venezolana*, 56 (Suplemento 1): 67, 2005.
- Borges A., De Sousa L., Manzanilla J. 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, 2006a.
- Borges A., García C., Lugo E., Alfonzo M., Jowers M., Op den Camp HJM. 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, 2006b.
- Borges A., Silva S., Op den Camp H., Velasco E., Alvarez M., Alfonso MJ., Jorquera A., De Sousa L., Delgado O. *In Vitro* leishmanicidal activity of *Tityus discrepans* scorpion venom. *Parasitology Research*, 99(2): 167-173, 2006c.
- Borges A., De Sousa L., Espinoza J., Santos R., Kalapothakis E., Valadares D., Chávez-Olortegui C. Characterization of *Tityus* scorpion venoms using synaptosome binding assays and reactivity towards Venezuelan and Brazilian antivenoms. *Toxicon*, 51: 66-79, 2008.
- Borges A., Bermingham E., Herrera N., Alfonzo M., Sanjur O. Molecular systematics of the neotropical scorpion genus *Tityus* (Buthiade): The historical biogeography and venom antigenic diversity of toxic Venezuelan species. *Toxicon*, 55: 436-454, 2010a.
- Borges A., Rojas-Runjaic FJM., Diez N., Faks JG., Op den Camp H., De Sousa L. Envenomation by scorpion *T. breweri* in the Guayana Shild, Venezuela. Report of a case, efficacy and reactivity of antivenom and proposal for a toxinological partitioning of the Venezuelan scorpion fauna. *Wilderness and Environmental Medicine*, En Prensa, 2010b.

- Brazón J., Guerrero B., Arocha-Piñango CL., Sevcik C., D'Suze G. Efectos del veneno del escorpión *Tityus discrepans* sobre las pruebas globales de la coagulación. Estudios preliminares. *Investigación Clínica*, 49(1): 49-58, 2008.
- Brazón J., D'Suze G., D'Errico ML., Arocha-Piñango CL., Guerrero B. Discreplasminin, a plasmin inhibitor isolated from *Tityus discrepans* scorpion venom. *Archives of Toxicology*, 83(7): 669-678, 2009.
- Chadee R. Evaluación de la actividad biológica del veneno de ejemplares machos y hembras de *Tityus nororientalis* (Scorpiones, Buthidae) en el modelo mûrido C57BL/6. Universidad de Oriente, Núcleo de Sucre, Escuela de Ciencias, Cumaná (Trabajo de Grado), pp. 45, 2010.
- Chinchilla Y., Franco L. Cuantificación del volumen y de la cantidad de proteínas del veneno de varias especies de *Tityus* de la Región Nororiental de Venezuela. Universidad de Oriente, Núcleo de Anzoátegui, Escuela de Medicina, Barcelona (Trabajo de Grado), pp. 45, 2003.
- Chippaux JP. Incidence et mortalité par animaux venimeux dans les pays tropicaux. *Médecine Tropicale*, 68(4): 334-339, 2008.
- Chippaux JP., Alagón A. Envenimations et empoisonnements par les animaux venimeux ou vénéneux. VII: l'arachnidisme du Nouveau monde. *Médecine Tropicale*, 68(3): 215-221, 2008.
- Chippaux JP., Goyffon M. Epidemiology of scorpionism: A global appraisal. *Acta Tropica*, 107: 71-79, 2008.
- Chique G. Caracterización bioquímica parcial de algunos componentes del veneno de escorpiones de la región Nororiental con actividad biológica demostrada en el modelo animal. Universidad de Oriente, Núcleo de Anzoátegui, Escuela de Ciencias de la Salud, Barcelona (Trabajo de Grado), pp. 48, 2009.
- Cornejo P. Registro de *Tityus tenuicauda* Prendini, 2001 (Scorpiones, Buthidae) para Venezuela. Aspectos farmacológicos de su veneno. Universidad de Oriente, Núcleo de Sucre, Postgrado en Biología Aplicada, Cumana (Trabajo de Maestría), pp. 90, 2008.
- Coronado L., Alvarado M., Dutari J. Características clínicas y epidemiológicas del alacranismo. Periodo 2002-2007. Hospital del Niño, Panamá. *Revista Pediátrica de Panamá*, 37(2): 36-46, 2008.

- Cova Y. Evaluación de la actividad biológica del veneno de tres especies venezolanas de importancia médica del género *Tityus* (Scorpiones, Buthidae). Universidad de Oriente, Núcleo de Sucre, Escuela de Ciencias, Cumaná (Trabajo de Grado), pp. 60, 2008.
- D'Suze G., Sevcik C., Ramos M. Presence of curarizing polypeptides and pancreatitis-inducing fraction without muscarinic effects in the venom of the Venezuelan scorpion *Tityus discrepans* (Karsch). *Toxicon*, 33: 333-345, 1995.
- D'Suze G., Sevcik C., Pérez J., Fox J. Isolation and characterization of a potent curarizing polypeptide from *Tityus discrepans* scorpion venom. *Toxicon*, 35: 1683-1689, 1997.
- D'Suze G., Zamudio F., Gómez-Lagunas F., Possani LD. A novel K⁺ channel blocking toxin from *Tityus discrepans* scorpion venom. *FEBS Letters*, 456: 146-148, 1999a.
- D'Suze G., Comellas A., Pesce L., Sevcik C., Sánchez-de-León R. *Tityus discrepans* venom produces a respiratory distress syndrome in rabbits through an indirect mechanism. *Toxicon*, 37: 173-180, 1999b.
- D'Suze G., Sevcik C., Corona M., Zamudio F., Batista C., Coronas F., Possani L. Ardiscretin a novel arthropod-selective toxin from *Tityus discrepans* scorpion venom. *Toxicon*, 43: 263-272, 2004a.
- D'Suze G., Salazar V., Díaz P., Sevcik C., Aspúrua H., Bracho N. Histopathological changes and inflammatory response induced by *Tityus discrepans* scorpion venom in rats. *Toxicon*, 44: 851-860, 2004b.
- D'Suze G., Batista C., Frau A., Murgia A., Zamudio F., Sevcik C., Possani L., Prestipino G. Discrepin, a new peptide of the sub-family α -ktx15, isolated from the scorpion *Tityus discrepans* irreversibly blocks K⁺-channels (I_A currents) of cerebellum granular cells. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 430: 256-263, 2004c.
- D'Suze G., Díaz P., Salazar V., Sevcik C., Brazón J. Effect of leukocyte inhibitors benzydamide and cyclophosphamide, on lung injury caused by *Tityus discrepans* scorpion venom. *Toxicon*, 50: 1116-1125, 2007.
- D'Suze G., Schwartz E., García-Gómez B., Sevcik C., Possani L. Molecular cloning and nucleotide sequence analysis of genes from a cDNA library of the scorpion *Tityus discrepans*. *Biochimie*, 91: 1010-1019, 2009.

- Da Cámara N., Rivas R., Rojas P. Evaluación de la actividad biológica y dosis letal cincuenta (DL₅₀) del veneno de *Tityus nororientalis* (Scorpiones, Buthidae) en ratones NMRI. Universidad de Oriente, Núcleo de Anzoátegui, Escuela de Ciencias de la Salud, Barcelona (Trabajo de Grado), pp. 32, 2008.
- De Los Ríos M. Alacranes con hábitos de invasión del ambiente antrópico depositados en la Colección de Escorpiones del Centro de Investigaciones en Ciencias de la Salud, Barcelona, Universidad de Oriente, Núcleo de Anzoátegui, Escuela de Ciencias de la Salud, Barcelona (Trabajo de Grado), pp. 63, 2006.
- De Sousa L. Toxicidad aguda experimental en ratones C57BL/6 inducida por dosis subletales del veneno de dos nuevas especies del género *Tityus* (Scorpionida: Buthidae) de la región Nororiental de Venezuela. Universidad de Oriente, Núcleo de Anzoátegui, Escuela de Medicina, Barcelona (Trabajo de Ascenso a Profesor Asistente), pp. 94, 2000.
- De Sousa L. Descripción de una nueva especie del género *Tityus* (Koch, 1836): *Tityus gonzalespongai* (Scorpiones: Buthidae) y estudio de la actividad biológica de su veneno en un modelo múrido. Universidad de Oriente, Núcleo de Sucre, Escuela de Ciencias, Postgrado en Biología Aplicada, Cumaná (Trabajo de Maestría y de Ascenso a Profesor Agregado), pp. 180, 2002.
- De Sousa L. Especie nueva de *Tityus* (Scorpiones, Buthidae) de la Serranía del Turimiquire, Nororiente de Venezuela. Caracterización morfológica, geográfica y toxinológica. Universidad de Oriente, Núcleo de Anzoátegui, Barcelona (Trabajo de Ascenso a Profesor Asociado), pp. 167, 2006.
- De Sousa L., Borges A. Escorpiones y escorpionismo en Venezuela. En: Enfoques y Temáticas en Entomología (J. Arrivillaga, M. El Souki, B. Herrera, editores). Caracas: Ediciones Astrodata, pp.154-165. 2009.
- De Sousa-Insana L., Pino O. Estudio comparativo de la actividad biológica del veneno de ejemplares hembras y machos de *Tityus nororientalis* (Scorpiones, Buthidae) en el modelo múrido C57BL/6. Colegio Juan Jacobo Rousseau, Cátedra de Metodología de la Investigación, Puerto La Cruz (Trabajo de Grado para optar al Título de Bachiller en Ciencias), pp. 49, 2009.
- De Sousa L., Kiriakos D., Jiménez J., Michieli D., Rodríguez C., Mirabal J., Quiroga M. Accidente cerebrovascular isquémico por emponzoñamiento escorpiónico: observación clínica. *Saber*, 7: 7-14, 1995.

- De Sousa L., Bónoli S., Quiroga M., Parrilla P. 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, 1996.
- De Sousa L., Parrilla P., Tillerio L., Valdiviezo A., Ledezma E., Jorquera A., Quiroga M. 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, 1997.
- De Sousa L., Bónoli S., Parrilla-Álvarez P., Ledezma E., Jorquera A., Quiroga M. The proposal of a new endemic macroregion for scorpionism in Venezuela. *Journal of Venomous Animal and Toxins*, 5: 111, 1999.
- De Sousa L., Parrilla-Alvarez P., Quiroga, M. An epidemiological review of scorpion stings in Venezuela. The northeastern region. Review article. *Journal of Venomous Animals and Toxins*, 6: 127-165, 2000.
- De Sousa L., Vásquez D., Salazar D., Valecillos R., Vásquez D., Rojas M., Parrilla-Álvarez P., Quiroga M. Mortalidad en humanos por envenenamientos causados por invertebrados y vertebrados en el estado Monagas, Venezuela. *Investigación Clínica*, 46: 241-254, 2005.
- De Sousa L., Manzanilla J., Parrilla-Álvarez P. Nueva especie de *Tityus* (Scorpiones: Buthidae) del Turimiquire, Venezuela. *Revista de Biología Tropical (International Journal of Tropical Biology and Conservation)*, 54: 489-504, 2006.
- De Sousa L., Boadas J. C., Kiriakos D., Boadas J. A., Marcano J., Borges A., De Los Rios M. Scorpionism due to *Tityus neoespartanus* (Scorpiones, Buthidae) on Margarita Island, northeastern Venezuela. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 40(6): 681-685, 2007a.
- De Sousa L., Manzanilla J., Cornejo-Escobar P. Depredación sobre serpiente colúbrida por *Latrodectus* cf. *geometricus* Koch, 1841 (Araneae: Theridiidae). *Ciencia*, 15(4): 410-412, 2007b.
- De Sousa L., Manzanilla J., Borges A., Cornejo-Escobar P., Gregoriani T. Discovery and description of the male of *Tityus uquirensis* (Scorpiones: Buthidae) from Paria peninsula, northeastern Venezuela. *Zootaxa*, 1828: 57-68, 2008a.
- De Sousa L., Borges A., Manzanilla J., Biondi I., Avellaneda E. Second record of *Tityus bahiensis* from Venezuela: Epidemiological implications. *Journal of*

- Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases*, 14(1): 170-177, 2008b.
- De Sousa L., Parrilla-Álvarez P., Pérez Di Gaeta P., Romero L., Quiroga M. Evaluación de la actividad biológica del veneno de *Tityus gonzalespongai* (Scorpiones, Buthidae) en ratones C57BL/6. *Saber*, 21(1): 50-62, 2009a.
- De Sousa L., Cornejo P., Borges A., Gregoriani T., Manzanilla J., Moncada R., Vásquez-Suárez A. Record of *Tityus tenuicauda* Prendini, 2001 (Scorpiones, Buthidae) for Venezuela: Taxonomical, molecular and pharmacological characterization. In: XVI World Congress of the International Society on Toxinology and X Congresso da Sociedade Brasileira de Toxinología. Recife, Pernambuco, Brasil, 2009b.
- De Sousa L., Vásquez-Suárez A., Manzanilla J., Gregoriani T. Alteraciones morfológicas observadas en el escorpión *Tityus quirogae* (Scorpiones, Buthidae) del nordeste de Venezuela. *Boletín de la Sociedad Entomológica Aragonesa*, 45: 365-370, 2009c.
- De Sousa L., Borges A., Vásquez-Suárez A., Op den Camp H., Chadee-Burgos R., Romero-Bellorín M., De Sousa-Insana L., Pino-García O. Sex matters: differences in venom toxicity and antigenicity between females and males of the scorpion *Tityus nororientalis* (Buthidae). *Journal of Venom Research*, 1: 61-70, 2010.
- Dehesa-Dávila M. Epidemiological characteristics of scorpion sting in Leon, Guanajuato, Mexico. *Toxicon*, 27: 281-285, 1989.
- Díaz P., D'Suze G., Salazar V., Sevcik C., Shannon J., Sherman N., Fox J. Antibacterial activity of six novel peptides from *Tityus discrepans* scorpion venom. A fluorescent probe study of microbial membrane Na⁺ permeability changes. *Toxicon*, 54: 802-817, 2009.
- Díaz R., Obregón D., Romero A. Distribución y ecología de *Tityus nororientalis* (Scorpiones, Buthidae) en los estados Anzoátegui, Monagas y Sucre. Notas sobre su historia natural. Colegio Juan Jacobo Rousseau, Cátedra de Metodología de la Investigación, Puerto La Cruz (Trabajo de Grado para optar al Título de Bachiller en Ciencias), pp. 71, 2005.
- Dixon W., Mood A. A method for obtaining and analyzing sensitivity data. *Journal American Statistical Assambly*, 43: 109-126, 1948.

- Espinoza G., Quijada J. Evaluación de antecedentes ecoepidemiológicos de accidentes causados por animales venenosos en una región de interés toxinológicos del estado Sucre. Universidad de Oriente, Núcleo de Anzoátegui, Escuela de Ciencias de la Salud, Barcelona (Trabajo de Grado), pp. 79, 2010.
- Fariñas H., Liñero M. Evaluación de las secuelas neurológicas e inmunológicas causadas por envenenamiento escorpiónico en el estado Anzoátegui. Universidad de Oriente, Núcleo de Anzoátegui, Escuela de Medicina, Barcelona (Trabajo de Grado), pp. 62, 2003.
- Fermín A., Quintero D. Alteraciones histopatológicas causadas por el veneno de escorpión *Tityus caripitensis* (Familia: Buthidae) sobre pulmón de ratones albinos. Universidad de Oriente, Núcleo de Bolívar, Escuela de Medicina, Ciudad Bolívar (Trabajo de Grado), pp. 52, 1996.
- Finney DJ. Probit Analysis. In: Statistical Methods in Biological Assays (Finney DJ. Ed.). London, Charles Griffin & Co; pp. 513-553, 1952.
- Foung M., García Z. Alteraciones histopatológicas por emponzoñamiento escorpiónico en miocardio de ratones. Universidad de Oriente, Núcleo de Bolívar, Escuela de Medicina, Ciudad Bolívar (Trabajo de Grado), pp. 41, 1994.
- Ghersy de Nieto MT., D'Suze G., Sevcik C., Salazar V., Silva V., Urbina H., Pardo R. Diabetes inducida por emponzoñamiento escorpiónico grave en un lactante de un año. *Medicina Crítica Venezolana*, 16(1): 14-19, 2004.
- Gil R., Marcano R. Comparación de la mortalidad causada por venenos de vertebrados e invertebrados en el estado Sucre (1990-2000). Universidad de Oriente, Núcleo de Anzoátegui, Escuela de Medicina, Barcelona (Trabajo de Grado), pp. 73, 2003.
- Glantz S. Primer of Biostatistics, 5th edición, Mc Graw- Hill, 2002.
- Gómez J., Otero R. Ecoepidemiología de los escorpiones de importancia médica en Colombia. *Revista de la Facultad Nacional de Salud Pública*, 25(1): 50-60, 2007.
- Gómez J., Otero R., Núñez V., Saldarriaga M., Díaz A., Velásquez M. Aspectos toxinológicos, clínicos y epidemiológicos del envenenamiento producido por el escorpión *Tityus fuhrmanii* Kraepelin. *MEDUNAB*, 5(15): 159-165, 2002.

- Gómez J., Quintana J., Arbeláez P., Fernández J., Silva J., Barona J., Gutiérrez J., Díaz A., Otero R. Picaduras por escorpión *Tityus asthenes* en Mutatá, Colombia: aspectos epidemiológicos, clínicos y toxicológicos. *Biomédica*, 30: 126-139, 2010.
- González-Sponga MA. Dos nuevas especies de alacranes del género *Tityus*, en las cuevas venezolanas (Scorpionida: Buthidae). *Boletín de la Sociedad Venezolana de Espeleología*, 5: 55-72, 1974.
- González-Sponga MA. Tres nuevas especies de arácnidos de Venezuela (Scorpionida: Chactidae: Buthidae). *Memorias de la Sociedad Ciencias Naturales La Salle*, 45: 25-45, 1985.
- González-Sponga MA. Tres nuevas especies del género *Tityus* de Venezuela (Scorpionida: Buthidae). *Boletín de la Sociedad Venezolana de Ciencias Naturales*, 41: 217-256, 1987.
- González-Sponga MA. Guía para identificar escorpiones de Venezuela. Caracas: Cuadernos Lagoven, 204 p. 1996a.
- González-Sponga MA. Arácnidos de Venezuela: Seis nuevas especies del género *Tityus* y redescipción de *Tityus pococki* Hirts, 1907, *Tityus rugosus* (Schenkel, 1932) n. comb. y *Tityus nematochirus* Mello-Leitão, 1940 (Scorpionida: Buthidae). *Acta Biológica Venezuelica*, 16: 1-38, 1996b.
- González-Sponga MA. Arácnidos de Venezuela. Cuatro especies nuevas del género *Tityus* (Scorpionida: Buthidae). *Acta Biológica Venezuelica*, 21: 69-83, 2001.
- González-Sponga MA. Arácnidos de Venezuela. Cuatro especies nuevas del género *Tityus* (Scorpionida: Buthidae). *Boletín de la Academia de Ciencias Físicas, Matemáticas y Naturales de Venezuela*, LXII: 49-66, 2002.
- Gregoriani T., De Sousa L. Sima Talpa Bothrops, serranía del Turimiquire, estado Anzoátegui, Venezuela. *Saber*, 17(1): 84-87, 2005.
- Gregoriani T., De Sousa L., Velásquez H., Hernández A., Moreno J., Guarimata A., Cárdenas G., Vásquez F. Sima Los Escorpiones, Serranía del Turimiquire, municipio Sotillo, estado Anzoátegui, Venezuela. *Saber*, 19(2): 183-191, 2007.
- Gregoriani T., Hernández A., Lárez L., Coronel F., De Sousa L. Nuevo registro de profundidad para la sima Los Escorpiones, con record venezolano. *Saber*, 20(3): 395-399, 2008.

- Guinand A., Cortes H., D'Suze G., Díaz P., Sevcik C., González-Sponga M., Eduarte G. Escorpionismo del género *Tityus* en la sierra falconiana y su correlación con la liberación de mediadores inflamatorios y enzimas cardíacas. *Gaceta Médica (Caracas)*, 112(2): 131-138, 2004.
- Harvey A., Bradley KN., Cochran SA., Rowan EG., Pratt JA., Quillfeldt JA., Jerusalinsky DA. What can toxins tell us for drug discovery?. *Toxicon*, 36: 1635-1640, 1998.
- Hurtado A., Montaña L., Rodríguez F. 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. Universidad de Oriente, Núcleo de Anzoátegui, Escuela de Ciencias de la Salud, Barcelona (Trabajo de Grado), pp. 82, 2008.
- Illanes A. Farmacología de los venenos de escorpiones. Universidad de Oriente, Núcleo de Bolívar, Escuela de Medicina, Ciudad Bolívar (Trabajo de Ascenso a Profesor Titular), pp. 99, 1981.
- Jiménez M., Paulo M. Separación en fracciones de los constituyentes proteicos del veneno de *Tityus gonzalespongai* (Scorpionida: Buthidae). Universidad de Oriente, Núcleo de Anzoátegui, Escuela de Medicina, Barcelona (Trabajo de Grado), pp. 58. 2001.
- Kiriakos D., Núñez P., Parababire Y., García M., Medina J., De Sousa L. First report of human Latrodectism in Venezuela. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 42(2): 202-204, 2008.
- Leipold E., Hansel A., Borges A., Heinemann S. 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, 2006.
- Lichtfield JT., Wilcoxon F. A simple method for evaluating dose-effect experiments. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 96: 99-113, 1949.
- Lourenço WR., Cuellar O. Scorpions, scorpionism, life strategies and parthenogenesis. Review article. *Journal of Venomous Animals and Toxins*, 1: 51-62, 1995.
- Lourenço WR., Cloudsley-Thompson JL., Cuéllar O., Von Eickstedt VRD., Barraviera B., Knox MB. The evolution of scorpionism in Brazil in recent years. *Journal of Venomous Animals and Toxins*, 2: 121-134, 1996.

- Luces C. Comparación de la mortalidad por envenenamientos, en humanos, causados por escorpiones y serpientes en los estados Monagas y Sucre, Venezuela (1990-2000). Universidad de Oriente, Núcleo de Anzoátegui, Escuela de Medicina, Barcelona (Trabajo de Grado), pp. 87, 2005.
- Lugo G., Urbaneja X. Efectos histopatológicos agudos del veneno de escorpión (Butidae: *Tityus caripitensis*) en páncreas de ratones. Universidad de Oriente, Núcleo de Bolívar, Escuela de Medicina, Ciudad Bolívar (Trabajo de Grado), pp. 49, 2007.
- Manzanilla J., Péfaur J. Consideraciones sobre métodos y técnicas de campo para el estudio de anfibios y reptiles. *Revista Latinoamericana de Ecología*, 7(1-2): 17-30, 2000.
- Manzanilla J., De Sousa L. Ecología y distribución de *Rhopalurus laticauda* Thorell, 1876 (Scorpiones: Buthidae) en Venezuela. *Saber*, 15(1-2): 3-14, 2003.
- Manzanilla J., De Sousa L., Quiroga M., López H., Parrilla-Alvarez P. Morfología externa de *Rhopalurus laticauda* (Scorpiones: Buthidae). *Saber*, 14(2): 94-102, 2002.
- Marcano M., Mundaray J. Toxicidad aguda y evaluación de la Dosis Letal Cincuenta (DL₅₀) en ratones C57/B6 inducida por el veneno de una nueva especie del género *Tityus* (*Tityus* n. sp. 1.) del estado Monagas. Universidad de Oriente, Núcleo de Anzoátegui, Escuela de Medicina, Barcelona (Trabajo de Grado), pp. 77, 2000.
- Marín D., y Rodríguez A. Toxicidad aguda y evaluación de la Dosis Letal Cincuenta (DL₅₀) en el modelo murino C57/B6 inducida por el veneno de *Tityus* sp. de Sabana de Piedra, estado Monagas. Universidad de Oriente, Núcleo de Anzoátegui, Escuela de Medicina, Barcelona (Trabajo de Grado), pp. 64, 2000.
- Martínez Y., Saud A., Vásquez D. Relación entre el escorpionismo y algunas características fisiogeográficas y ecológicas del estado Monagas. Universidad de Oriente, Núcleo de Anzoátegui, Escuela de Medicina, Barcelona (Trabajo de Grado), pp. 66, 1998.
- Matos M. Evaluación del perfil eco-epidemiológico y clínico del escorpionismo y ofidismo en el estado Sucre, Venezuela. Periodo 2002-2006. Universidad de Oriente, Núcleo de Anzoátegui Trabajo de Grado para optar al título *Magister Scientiarum* en Salud Pública, Mención Epidemiología. Postgrado en Salud Pública, Centro de Estudios de Postgrado, Barcelona, pp. 245, 2010.

- Mazzei de Dávila C., Parra M., Fuenmayor A., Salgar N., González Z., Dávila D. Scorpion envenomation in Mérida, Venezuela. *Toxicon*, 35: 1459-1462, 1997.
- Mazzei de Dávila C., Dávila D., Donis J., Arata-Bellabarba G., Villarreal V., Barboza L. Sympathetic nervous system activation, antivenin administration and cardiovascular manifestations of scorpion envenomation. *Toxicon*, 40: 1339-1346, 2002.
- Meier J., Theakston R. Approximate LD₅₀ determinations of snake venoms using eight to ten experimental animals. *Toxicon*. 24(4): 395-401, 1986.
- Mejias-R R., Yáñez C., Árias R., Mejias-R R., de Árias Z., Luna J. Ocurrencia de escorpionismo en los distritos sanitarios del estado Mérida. *Investigación Clínica*, 48: 147-153, 2007.
- Molinengo L. The curve doses vs survival time in the evaluation of acute toxicity. *J. Pharm. Pharmacol.* 31: 343-344, 1979.
- Mota J., Ghersy de Nieto M., Bastardo M., Rodríguez J., Duque L., Freytez L. Emponzoñamiento escorpiónico: clínica y laboratorio usando antivenina. *Boletín del Hospital de Niños (Caracas)*, 30: 35-40, 1994.
- Nishikawa AK., Caricati CP., Lima ML., Dos Santos MC., Kipnis TL., von Eickstedt VRD., Knysak I., Da Silva MH., Higashi HG., Días Da Silva W. Antigenic cross-reactivity among the venoms from several species of Brazilian scorpions. *Toxicon*, 32(8): 989-998, 1994.
- Ortiz N. Actividad biológica del veneno de escorpión (*Rhopalurus laticauda*) en ratones. Determinación de la dosis letal cincuenta (DL₅₀). Universidad de Oriente, Núcleo de Bolívar, Escuela de Medicina, Ciudad Bolívar (Trabajo de Grado), pp. 55, 1985.
- Otero R., Uribe F., Sierra A. Envenenamiento escorpiónico en niños. *Actualizaciones Pediátricas*, 8: 88-92. 1998.
- Otero R., Navio E., Céspedes FA., Núñez MJ., Lozano L., Moscoso ER., Matallana C., Arsuza NB., García J., Fernández D., Rodas JH., Rodríguez OJ., Zuleta JE., Gómez JP., Saldarriaga M., Quintana JC., Núñez V., Cárdenas S., Barona J., Valderrama R., Paz N., Díaz A., Rodríguez OL., Martínez MD., Maturana R., Beltrán LE., Mesa MB., Paniagua J., Flórez E., Lourenço WR. 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, 2004.

- Padrón C., Romero G. Notas sobre alacranes con hábitos de invasión del ambiente antrópico depositados en la Colección de Escorpiones del Centro de Investigaciones en Ciencias de la Salud. Colegio Juan Jacobo Rousseau, Cátedra de Metodología de la Investigación, Puerto La Cruz (Trabajo de Grado para optar al Título de Bachiller en Ciencias), pp. 49, 2006.
- Páez X., Mazzei de Dávila C., Quiñonez B., D'Suze G., Hernández H. Cambios en aminoácidos luego de la administración intraperitoneal de veneno del escorpión *Tityus zulianus* en ratones. Estudio con microdiálisis subcutánea y electroforesis capilar. *Investigación Clínica*, 44(4): 291-302, 2003.
- Parrilla-Álvarez P. Caracterización inmunológica parcial del veneno y toxoide de escorpiones venezolanos del género *Tityus*. Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas, Centro de Estudios Avanzados, Caracas (Disertación *Magíster Scientiarum*). pp. 131, 1999.
- Pavan M., Vachon S. Sur l'Existence d'une substance fluorescente dans les téguments des scorpionn. *Académie de Sciences (Paris)*, 293: 1700-1702, 1954.
- Pérez O., Velásquez R. Características epidemiológicas del envenenamiento por picadura de escorpión y su relación con las variables fisiogeográficas del estado Sucre. Universidad de Oriente, Núcleo de Anzoátegui, Escuela de Medicina, Barcelona (Trabajo de Grado), pp. 82, 1999.
- Pérez Y., Quijada N., Villalba R. Elaboración del mapa clinico-epidemiológico del ofidismo en el estado Monagas, Venezuela. Periodo 2002-2006. Universidad de Oriente, Núcleo de Anzoátegui, Escuela de Ciencias de la Salud, Barcelona (Trabajo de Grado), pp. 50, 2010.
- Pérez Di Gaeta P. Toxicidad aguda experimental en ratones C57BL/6 inducida por dosis subletales del veneno de dos nuevas especies del género *Tityus* (Scorpionida: Buthidae) del estado Monagas. Universidad Santa María, Núcleo de Oriente, Facultad de Farmacia, Lechería (Trabajo de Grado), pp. 114, 2001.
- Poggio C. Elaboración del mapa clinico-epidemiológico del ofidismo en el estado Sucre, Venezuela. Periodo 2002-2006. Universidad de Oriente, Núcleo de Anzoátegui, Escuela de Ciencias de la Salud, Barcelona (Trabajo de Grado), pp. 55, 2009.

- Porras J., Rosillo-González M., Guirado-Pastor M. Escorpionismo por *Tityus discrepans*. Estudio retrospectivo 1983-1986. *Archivos Venezolanos de Pediatría y Puericultura*, 57: 98-105, 1994.
- Portillo A., Sojo I., Zerpa J. Alteraciones histopatológicas causadas por el veneno del escorpión *Tityus caripitensis* (Familia: Buthidae) sobre hígado y riñón de ratón. Universidad de Oriente, Núcleo de Bolívar, Escuela de Medicina, Ciudad Bolívar (Trabajo de Grado), pp. 41, 1996.
- Possani LD., Alagón A., Fletcher Jr. P., Erikson B. 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, 1977.
- Possani, L. D.; Becerril, B.; Delepiere, M. y Tytgat, J. Scorpion toxins specific for Na⁺ channels. *European Journal of Biochemistry*, 264: 287-300, 1999.
- Prendini L., Wheeler W. Scorpion higher phylogeny and classification, taxonomic anarchy, and standards for peer review in online publishing. *Cladistics*, 21: 446-494, 2005.
- Quiroga M., Illanes A., González A., Jaramillo E. Mantención de escorpiones en el laboratorio, Orden Scorpionida, Buthidae. *Rhopalurus laicauda* (Thiorell, 1876). Influencia de la alimentación. *Acta Científica Venezolana*, 33: 502-588, 1982.
- Quiroga M., Parrilla-Alvarez P., De Sousa L. The biology of Buthidae scorpions of the genus *Tityus*, a major cause of envenoming in northeastern Venezuela. *Journal of Venomous Animals and Toxins*, 5(1): 104, 1999.
- Quiroga M., De Sousa L., Parrilla-Álvarez P. The description of *Tityus caripitensis*, a new Venezuelan scorpion (Scorpionida: Buthidae). *Journal of Venomous Animals and Toxins*, 6: 99-117, 2000.
- Quiroga M., De Sousa L., Parrilla-Alvarez P., Manzanilla J. The first report of *Tityus* (Scorpiones: Buthidae) in Anzoátegui State, Venezuela. A new species. *Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases*, 10: 10-33, 2004.
- Ramos J., Sifontes A. estudio comparativo clínico-epidemiológico del ofidismo en los estados Sucre y Monagas, Venezuela. Periodo 2002-2006. Universidad de Oriente, Núcleo de Anzoátegui, Escuela de Ciencias de la Salud, Barcelona (Trabajo de Grado), pp. 54, 2010.

- Reed LJ., Muench H. A simple method of estimating percent endpoints. *Am. J. Hyg.* 27: 493-497, 1938.
- Reyes-Lugo M., Rodríguez-Acosta A. Scorpion envenoming by *Tityus discrepans* Pocock, 1897 in the northern coastal region of Venezuela. *Revista Científica FCV-LUZ*, 11: 412-417, 2001.
- Rodríguez-Acosta A., Pulido-Méndez M., Strauss M., Finol H., Rodríguez C., González L. Salivary gland ultrastructural alterations in mice inoculated with *Tityus discrepans* (Buthidae) venom. *Journal of Submicroscopic Cytology and Pathology*, 32(2): 241-245, 2000a.
- Rodríguez-Acosta A., Strauss M., Pulido-Méndez M., Finol H. Adrenal gland ultrastructural changes in mice inoculated with *Tityus discrepans* (Buthidae) venom. *Revista Científica, FCV-LUZ*, 10(6): 480-485, 2000b.
- Rodríguez-Acosta A., Strauss M., Pulido-Méndez M., González L., Rodríguez C., Blanco M. An intent of correlating manifestations and ultrastructural lung changes in mice inoculated with *Tityus discrepans* (Buthidae) venom. *Journal of Submicroscopic Cytology and Pathology*, 33(3): 343-348, 2001.
- Rojas-Runjaic FJM., De Sousa L. Catálogo de los escorpiones de Venezuela (Arachnida: Scorpiones). *Boletín de la Sociedad Entomológica Aragonesa*, 40: 281-307, 2007.
- Romero, M. Elaboración del mapa clínico-epidemiológico y toxicológico del escorpionismo en el estado Sucre, Venezuela. Trabajo de Grado para *Magíster Scientiarium*, Postgrado en Biología Aplicada, Universidad de Oriente, Cumaná, 2010.
- Ross ME. Pharmacodynamics. Mechanisms of drug action and the relationships between drug concentration and effect. In: Hardman JG., Limbird LE., Molinoff PB., Ruddon RW., Goodman-Gilman A. Ed. *Goodman and Gilman, the pharmacological basis of therapeutics*. Ninth Edition. New York: McGraw-Hill, 29-41 p. 1996.
- Salazar D. Mortalidad causada por venenos de vertebrados e invertebrados en el estado Monagas (1980-2000). Universidad de Oriente, Núcleo de Anzoátegui, Escuela de Medicina, Barcelona (Trabajo de Grado), pp. 77, 2001.
- Saldarriaga M. M., Otero R. Los escorpiones: Aspectos ecológicos, biológicos y toxicológicos. *MEDUNAB*, 3(7): 17-23, 2000.

- Salomón L. Cambios histológicos causados por el veneno de *Tityus nororientalis* (Scorpiones, Buthidae) en riñones de ratones BALBc, NMRI y C57BL/6. Universidad de Oriente, Núcleo de Anzoátegui, Escuela de Ciencias de la Salud, Barcelona (Trabajo de Grado), pp. 60, 2009.
- Sánchez M. Perfil eco-epidemiológico de los accidentes causados por animales venenosos, atendidos en el Hospital Luis Razetti, Tucupita, Delta Amacuro, 2002-2006. Universidad de Oriente, Núcleo de Anzoátegui, Escuela de Ciencias de la Salud, Barcelona (Trabajo de Grado), pp. 63, 2010.
- Sanquíz M., González Z. Evaluación de la actividad biológica del veneno de *Tityus nororientalis* en ratones de la cepa BALB/c. Colegio Nuestra Señora de Lourdes, Cátedra de Metodología de la Investigación, Puerto La Cruz (Trabajo de Grado para optar al Título de Bachiller en Ciencias), pp. 56, 2008.
- Sevcik C. LD₅₀ Determination: objections to the method of Beccari as modified by Molinengo. *Toxicon*, 25: 779-783, 1987.
- Sofer S., Gueron M., White RM., Lifshitz M., Apte NN. Interleukin-6 release following scorpion sting in children. *Toxicon*, 34: 389-392, 1996.
- Spirandeli-Cruz E. Biología dos escorpioês. En: Barraviera, B. Ed. Venenos. Aspectos clínicos e terapêuticos dos acidentes por animais peçonhentos. Río de Janeiro: EPUC: 135-50, 1999.
- Strauss M., Rodríguez-Acosta A., Pulido-Méndez M. Cardiac ultrastructural alterations in mice inoculated with *Tityus discrepans* (Buthidae) venom. *Journal of Submicroscopic Cytology and Pathology*, 32(4): 613-618, 2000.
- Tillero I., Valdiviezo A. Caracterización epidemiológica del escorpionismo en los municipios Acosta y Caripe del estado Monagas. Universidad de Oriente, Núcleo de Bolívar, Escuela de Medicina, Ciudad Bolívar (Trabajo de Grado), pp. 72, 1994.
- Tsushima RG., Borges A., Backx PH. Inactivated state dependence of sodium channel modulation by β -scorpion toxin. *Pfugers Archieves (European Journal Physiology)*, 437: 661-668, 1999.
- Turkali I. Evaluación de la actividad biológica del veneno de *Tityus nororientalis* (Scorpiones, Buthidae) de Alto Llano, municipio Sotillo, estado Anzoátegui. Universidad de Oriente, Núcleo de Anzoátegui, Escuela de Medicina, Barcelona (Trabajo de Grado), pp. 58, 2004.

- Valecillos R. Separación cromatográfica de las fracciones del veneno de una nueva especie del género *Tityus* (*T. quirogae*). Universidad de Oriente, Núcleo de Anzoátegui, Escuela de Medicina, Barcelona (Trabajo de Grado), pp. 46, 2001.
- Velasco E., Gledhill T., Rodríguez C., Linares C., Gutiérrez A., Pérez A. Patología ultraestructural del miocardio en modelos murinos al veneno de *Tityus discrepans*. *Acta Microscópica*, 16(1-2; Supl. 2): 179-180, 2007.
- Velásquez A., Rodríguez R. Epidemiología y algunos aspectos clínicos en el estado Monagas. Universidad de Oriente, Núcleo de Bolívar, Escuela de Medicina, Ciudad Bolívar (Trabajo de Grado), pp. 101, 1992.
- von Eisckstedt VRD., Ribeiro LA., Candido DM., Albuquerque MJ., Jorge MT. Evolution of scorpionism by *Tityus bahiensis* (Perty) and *Tityus serrulatus* Lutz and Mello and geographical distribution of the two species in the state of São Paulo, Brazil. *Journal of Venomous Animals and Toxins*, 2: 95-105, 1996.
- Voronov E., Apte RN., Sofer S. The systemic inflammatory response syndrome related to the release of cytokines following severe envenomation. *Journal of Venomous Animals and Toxins*, 5: 5-3, 1999.

METADATOS PARA TESIS Y TRABAJOS DE ASCENSO

Título	PROPUESTA DEL MAPA DE TOXICIDAD PARA EL VENENO DE ALGUNOS ESCORPIONES DEL NORORIENTE VENEZOLANO
Subtítulo	

Autor(es)

Apellidos y Nombres	Código CVLAC / e-mail	
Yégüez Cabeza, Ana Ysabel	CVLAC	9.271.880
	e-mail	anaisayeguez@hotmail.com
	e-mail	

Palabras o frases claves:

<i>Tityus nororientalis</i>
<i>Rhopalurus laticauda</i>
Escorpionismo
Mapa de toxicidad
Actividad biológica
Dosis letal 50

Líneas y sublíneas de investigación:

Área	Subárea
Escuela de Ciencias de la Salud	Medicina
	Toxinología
	Farmacología

Resumen:

Con la información relacionada con la productividad del veneno y con los índices letales y el curso temporal de toxicidad aguda experimental, en el presente trabajo se pretende establecer el mapa preliminar de toxicidad de los venenos de algunos bítidos del nororiente venezolano estudiados en el Laboratorio de Toxinología del Grupo de Investigación en Toxinología Aplicada y Animales Venenosos del Departamento de Ciencias Fisiológicas, Escuela de Ciencias de la Salud, Universidad de Oriente, Núcleo de Anzoátegui. Para tal fin se compararon, en detalle, los venenos de un lote de *Rhopalurus laticauda* capturados en el campus de la Universidad de Oriente, Núcleo de Anzoátegui y de *Tityus nororientalis* capturados en su localidad tipo ubicada en Catuaro, municipio Ribero, estado Sucre. Por ordeño eléctrico, *R. laticauda* es un escorpión de baja productividad de veneno, en promedio originó una concentración de 0,12 mg/ μ L, mientras que *T. nororientalis* produjo 0,43 mg/ μ L. El primer punto de inflexión (fenómeno muerte – no muerte o no muerte – muerte) con el veneno de *T. nororientalis* se obtuvo con un consumo de 0,39 mg (394,1 μ g) de proteínas y con el de *R. laticauda* con la administración de 7,36 mg (7.361,84 μ g). La cantidad total de veneno de *T. nororientalis*, utilizada en la experiencia, fue de 2,2 mg (2.163,66 μ g), en doce ratones, para obtener la DL₅₀; significativamente menor que la cuantía total de veneno de *R. laticauda* [21,4 mg (21.367,72 μ g) de proteínas, en 14 ratones (corrida no válida y corrida válida)]. La letalidad (n = 4; 80,0% de los ratones) se obtuvo con dosis menores (10,00 μ g g⁻¹) del veneno de *T. nororientalis*; significativamente menor al de *R. laticauda* (125,89 μ g g⁻¹). La DL₅₀ [106,01 (100,00 – 112,95) μ g. g⁻¹ de ratón] del veneno de *R. laticauda* fue significativamente de menor potencia que la DL₅₀ [9,46 (8,91 – 9,46) μ g.g⁻¹ de ratón] de *T. nororientalis*. Los venenos de ambas especies, en ratones C57BL/6, inducen signos de toxicidad aguda experimental comunes; aunque con mayor frecuencia e intensidad cuando se ensayó el de *T. nororientalis*. Se han demostrado cualitativamente diferencias en toxicidad entre venenos obtenidos de distintas poblaciones de *T. nororientalis* y de *T. quirogae*; lo que podría indicar dos grupos de toxicidad para los *Tityus* del nororiente venezolano: uno de mayor potencia y otro de menor potencia. Las evidencias podrían indicar la conformación de un mapa de toxicidad entre las distintas especies de escorpiones; y dentro de una misma especie, dependiendo de su origen geográfico.

Contribuidores:

Apellidos y Nombres	ROL / Código CVLAC / e-mail	
Demetrio Kiriakos	ROL	C <input type="checkbox"/> A <input type="checkbox"/> T <input type="checkbox"/> J <input checked="" type="checkbox"/> A <input type="checkbox"/> S <input type="checkbox"/> U <input type="checkbox"/> U <input type="checkbox"/>
	CVLAC	5.698.723
	e-mail	kiriakossch@cantv.net
	e-mail	
Stefano Bónoli	ROL	C <input type="checkbox"/> A <input type="checkbox"/> T <input type="checkbox"/> J <input checked="" type="checkbox"/> A <input type="checkbox"/> S <input type="checkbox"/> U <input type="checkbox"/> U <input type="checkbox"/>
	CVLAC	11.727.468
	e-mail	sbonoli@cantv.net
	e-mail	
Leonardo De Sousa	ROL	C <input type="checkbox"/> A <input type="checkbox"/> T <input type="checkbox"/> J <input type="checkbox"/> A <input type="checkbox"/> S <input checked="" type="checkbox"/> U <input type="checkbox"/> U <input type="checkbox"/>
	CVLAC	14.214.493
	e-mail	leonardodesousa@yahoo.com
	e-mail	

Fecha de discusión y aprobación:

Año	Mes	Día
2010	12	08

Lenguaje:

spa x

Archivo(s):

Nombre de archivo	Tipo MIME
toxicidad.escorpiofauna.nororiental.doc	Application/Word

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

Alcance:

Espacial: Escuela de Ciencias de la Salud

Temporal: _____

Título o Grado asociado con el trabajo:

Revalidar Título de Médico Cirujano

Nivel Asociado con el Trabajo: Pre Grado (reválida de título)

Área de Estudio:

Sección de Farmacología, Departamento de Ciencias Fisiológicas

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

Universidad de Oriente, Núcleo de Anzoátegui

Derechos:

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

Ana Ysabel Yéguez Cabeza

AUTOR

Leonardo De Sousa

Demetrio Kiriakos

Stefano Bónoli

TUTOR

JURADO

JURADO

Profa. Rosibel Villegas

Coordinadora de la Comisión de Trabajos de Grado

POR LA SUBCOMISIÓN DE TESIS