

UNIVERSIDAD DE PANAMÁ
VICERRECTORÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSTGRADO
PROGRAMA DE MAESTRÍA EN TOXICOLOGÍA CON ÉNFASIS EN TOXICOLOGÍA
ANALÍTICA Y FORENSE

EVALUACIÓN DE LOS EFECTOS TOXINOLÓGICOS EN RATONES DE LOS VENENOS
DE ESCORPIONES DE LOS GÉNEROS TITYUS Y CENTRUROIDES DE PANAMÁ:
MANIFESTACIONES CLÍNICAS Y HALLAZGOS DE LABORATORIO

MARICRUZ MARIELA MORÁN GONZÁLEZ

TESIS PRESENTADA COMO REQUISITO PARA OBTENER EL GRADO DE MAESTRÍA
EN TOXICOLOGÍA

PANAMÁ, REPÚBLICA DE PANAMÁ

2024

EVALUACIÓN DE LOS EFECTOS TOXINOLÓGICOS EN RATONES DE LOS VENENOS
DE ESCORPIONES DE LOS GÉNEROS TITYUS Y CENTRUROIDES DE PANAMÁ:
MANIFESTACIONES CLÍNICAS Y HALLAZGOS DE LABORATORIO

PRESENTADA POR: MARICRUZ MARIELA MORÁN GONZÁLEZ

JURADO CALIFICADOR:

Mgtra. Leandra Gómez Director de Tesis

Dr. Luis Coronado Miembro del Jurado

Dr. Roberto Miranda Miembro del Jurado

REPRESENTANTE DE LA VICERRECTORÍA DE

INVESTIGACIÓN Y POSTGRADO

COORDINADOR DE POSTGRADO



Handwritten signatures of the jury members and the representative of the Vicerrectoría de Investigación y Postgrado.

FECHA: 18 Junio 2024

DEDICATORIA

Trabajo dedicado a cada uno de los ratones que dieron su vida a cambio de generar un resultado científico a la población.

AGRADECIMIENTOS

A Dios, porque su amor y bondad no tienen fin; su ayuda incondicional, me ha permitido lograr este objetivo, cada error cometido era para mejorar; cada día, cada minuto vivido durante estos 5 años, son simplemente únicos; gracias por haber puesto en mi camino las personas que, de una u otra forma, han sido mi soporte y compañía durante el periodo de estudio.

A la Universidad de Panamá y a la Vicerrectoría de Investigación y Postgrado; también, a cada uno de los profesores nacionales e internacionales que brindaron todos sus conocimientos para formarme como futura profesional en el ámbito de la toxicología.

A mi directora de Tesis, magíster Leandra Gómez, por aceptarme como su tesista por segunda ocasión, por brindarme sus conocimientos científicos, por capacitarme y guiarme durante el desarrollo de esta tesis. También, a la profesora Hilda A. de Patiño, por darme la oportunidad de ser parte de su equipo de trabajo, dentro del Centro de Investigación e Información de Medicamentos y Tóxicos (CIIMET), y así llevar a cabo el desarrollo de esta investigación.

A todo el equipo del CIIMET que, de una u otra forma, fueron parte fundamental para desarrollar esta tesis, principalmente, a Yaneth Núñez, por su importante colaboración y ayuda en este proyecto, por estar siempre pendiente en cada uno de los ensayos realizados y por darme ánimos a la hora de escribir; a Emilio Romero, por su apoyo invaluable en el desarrollo del análisis estadístico de esta investigación. Al Dr. Gerardo Corzo y a la Dra. Herlinda Clement, del Instituto de Biotecnología de la Universidad Nacional Autónoma de México, por su apoyo técnico en el laboratorio, en donde realicé parte de esta investigación.

A mi madre, quien siempre ha estado pendiente de mí, como pilar fundamental a lo largo de la carrera; a mi hermano, por estar pendiente por sus buenos consejos y alentarme a seguir adelante; a Moisés Montenegro, porque siempre ha estado allí brindándome su apoyo incondicional durante el desarrollo de mi trabajo.

ÍNDICE GENERAL

DEDICATORIA.....	iii
AGRADECIMIENTOS	iv
ÍNDICE GENERAL	v
ÍNDICE DE TABLAS	ix
ÍNDICE DE GRÁFICAS.....	xiv
ÍNDICE DE FIGURAS.....	xviii
ABREVIATURAS Y ACRÓNIMOS	xx
RESUMEN.....	1
SUMMARY	1
INTRODUCCIÓN	3
CAPÍTULO PRIMERO	5
MARCO CONCEPTUAL	5
1. Antecedentes del Estudio.....	6
1.1. Aspectos generales.....	6
1.1.1. Planteamiento del Problema	6
1.1.2. Justificación del Estudio	7
1.1.3. Hipótesis.....	8
1.1.4. Objetivos del estudio.....	8
1.2. Cobertura del estudio	9
1.3. Limitaciones.....	10
CAPÍTULO SEGUNDO	11
MARCO TEÓRICO-REFERENCIAL	11
2. Los escorpiones.....	12
2.1. Lista de escorpiones que se encuentran en Panamá	13
2.2. Distribución geográfica de los escorpiones involucrados en este estudio.....	14
a. <i>Tityus (Atreus) sp.</i>	14
b. <i>Tityus (Atreus) championi</i> Pocock, 1898.....	15
c. <i>Tityus (Atreus) festae</i> Borelli, 1899.....	16
d. <i>Centruroides bicolor</i> (Pocock, 1898).....	16
e. <i>Centruroides limbatus</i> (Pocock, 1898).....	17
2.3. Veneno de los escorpiones.....	18

2.4.	Componentes del veneno de escorpión	19
2.5.	Toxinas del veneno de escorpión	20
2.6.	Manifestaciones clínicas de los envenenamientos escorpiónicos	24
2.7.	Escorpionismo	34
2.8.	Tratamiento del envenenamiento escorpiónico	36
CAPÍTULO TERCERO		38
METODOLOGÍA		38
3.	Metodología	39
3.1.	Tipo y diseño general del estudio	39
3.2.	Tamaño de muestra	39
3.3.	Animales de experimentación	39
3.4.	Escorpiones y veneno	40
3.5.	Aspectos éticos	42
3.6.	Tamizado Hipocrático para evaluar el envenenamiento escorpiónico	42
3.7.	Pruebas de hematología y química sanguínea	48
3.7.1.	Administración de veneno	48
3.7.2.	Obtención de muestra de sangre	48
3.7.3.	Determinaciones analíticas del hemograma completo por técnicas de espectrofotometría, principio Coulter y frotis de sangre periférica	49
3.7.4.	Determinaciones analíticas de química sanguínea por técnica de espectrofotometría UV/visible	53
3.8.	Fraccionamiento del veneno de <i>Tityus (Atreus) sp.</i> por técnica cromatográfica y evaluación de la actividad biológica <i>in vivo</i> e <i>in vitro</i> de algunas fracciones	64
3.8.1.	Separación de las proteínas del veneno de <i>Tityus (Atreus) sp.</i>	64
3.8.2.	Cuantificación de proteínas presentes en las fracciones del veneno de <i>Tityus (Atreus) sp.</i>	65
3.8.3.	Determinación de la actividad miotóxica en ratones	65
3.8.4.	Determinación de la actividad hialuronidasa en gel de poliacrilamida	66
3.9.	Análisis estadístico	67
CAPÍTULO CUARTO		68
RESULTADOS Y DISCUSIÓN		68
4.	Resultados y discusión	69
4.1.	Resultados	69

4.1.1.	Envenenamiento experimental con veneno de escorpión <i>Tityus (Atreus) sp.</i> ..	69
4.1.2.	Envenenamiento experimental con veneno de escorpión <i>Tityus (Atreus) championi</i>	78
4.1.3.	Envenenamiento experimental con veneno de escorpión <i>Tityus (Atreus) festae</i>	88
4.1.4.	Envenenamiento experimental con veneno de escorpión <i>Centruroides bicolor</i>	98
4.1.5.	Envenenamiento experimental con veneno de escorpión <i>Centruroides limbatus</i>	107
4.1.6.	Hemograma completo de ratones inoculados con el veneno de <i>Tityus (Atreus) sp.</i>	115
4.1.7.	Hemograma completo de ratones inoculados con el veneno de <i>Tityus (Atreus) championi</i>	120
4.1.8.	Hemograma completo de ratones inoculados con el veneno de <i>Tityus (Atreus) festae</i>	124
4.1.9.	Hemograma completo de ratones inoculados con el veneno de <i>Centruroides bicolor</i>	130
4.1.10.	Hemograma completo de ratones inoculados con el veneno de <i>Centruroides limbatus</i>	135
4.1.11.	Química sanguínea de ratones inoculados con el veneno de <i>Tityus (Atreus) sp.</i>	138
4.1.12.	Química sanguínea de ratones inoculados con el veneno de <i>Tityus (Atreus) championi</i>	144
4.1.13.	Química sanguínea de ratones inoculados con el veneno de <i>Tityus (Atreus) festae</i>	150
4.1.14.	Química sanguínea de ratones inoculados con el veneno de <i>Centruroides bicolor</i>	156
4.1.15.	Química sanguínea de ratones inoculados con el veneno de <i>Centruroides limbatus</i>	162
4.1.16.	Análisis proteómico del veneno de <i>Tityus (Atreus) sp.</i> y evaluación de la actividad biológica <i>in vivo</i> e <i>in vitro</i> de algunas fracciones	167
4.2.	Discusión	171
CONCLUSIONES.....		186

RECOMENDACIONES.....	187
BIBLIOGRAFÍA.....	188
ANEXOS.....	206

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Lista de escorpiones de Panamá.....	14
Tabla 2. Cantidad de animales de experimentación utilizados en los diferentes experimentos	39
Tabla 3. Dosis Letales 50 de los venenos de escorpiones	41
Tabla 4. Parámetros que se evaluaron en el Tamizado Hipocrático	43
Tabla 5. Descripción de los parámetros evaluados en el hemograma completo	51
Tabla 6. Procedimiento para la determinación de glucosa sérica.	55
Tabla 7. Procedimiento para la determinación de amilasa sérica.	56
Tabla 8. Procedimiento para la determinación de creatina kinasa sérica.	57
Tabla 9. Procedimiento para la determinación de creatina kinasa – MB sérica.	58
Tabla 10. Procedimiento para la determinación de creatinina sérica	60
Tabla 11. Procedimiento para la determinación de nitrógeno de urea sérico	61
Tabla 12. Procedimiento para la determinación de sodio sérico	62
Tabla 13. Procedimiento para la determinación de potasio sérico	64
Tabla 14. Frecuencia de signos de envenenamiento en ratones al inocular veneno de <i>Tityus (Atreus)</i> <i>sp.</i> con la dosis de 0.5 DL ₅₀ (2.1 mg/Kg).	70
Tabla 15. Resultados en mm de la lacrimación y sialorrea después de la inoculación de veneno de <i>Tityus (Atreus)</i> <i>sp.</i> con la dosis de 0.5 DL ₅₀ (2.1 mg/Kg).	71
Tabla 16. Frecuencia de signos de envenenamiento en ratones al inocular veneno de <i>Tityus (Atreus)</i> <i>sp.</i> con la dosis de 1 DL ₅₀ (4.2 mg/Kg).	73
Tabla 17. Resultados en mm de la lacrimación y sialorrea posterior a la inoculación de veneno de <i>Tityus (Atreus)</i> <i>sp.</i> con la dosis de 1 DL ₅₀ (4.2 mg/Kg).	74
Tabla 18. Frecuencia de signos de envenenamiento en ratones al inocular veneno de <i>Tityus (Atreus)</i> <i>sp.</i> con la dosis de 1.5 DL ₅₀ (6.3 mg/Kg).	76
Tabla 19. Resultados en mm de la lacrimación y salivación posterior a la inoculación de veneno de <i>Tityus (Atreus)</i> <i>sp.</i> con la dosis de 1.5 DL ₅₀ (6.3 mg/Kg).	77
Tabla 20. Frecuencia de signos de envenenamiento en ratones al inocular veneno de <i>T. championi</i> con la dosis de 0.5 DL ₅₀ (1.45 mg/Kg).	78
Tabla 21. Resultados en mm de la lacrimación y sialorrea posterior a la inoculación de veneno de <i>T. championi</i> con la dosis de 0.5 DL ₅₀ (1.45 mg/Kg).	80
Tabla 22. Frecuencia de signos de envenenamiento en ratones al inocular veneno de <i>T. championi</i> con la dosis de 1 DL ₅₀ (2.9 mg/Kg).	82

Tabla 23. Resultados en mm de la lacrimación y sialorrea posterior a la inoculación de veneno de <i>T. championi</i> con la dosis de 1 DL ₅₀ (2.9 mg/Kg).....	84
Tabla 24. Frecuencia de signos de envenenamiento en ratones al inocular veneno de <i>T. championi</i> con la dosis de 1.5 DL ₅₀ (4.35 mg/Kg).	86
Tabla 25. Resultados en mm de la lacrimación y salivación posterior a la inoculación de veneno de <i>T. championi</i> con la dosis de 1.5 DL ₅₀ (4.35 mg/Kg).....	87
Tabla 26. Frecuencia de signos de envenenamiento en ratones al inocular veneno de <i>T. festae</i> con la dosis de 0.5 DL ₅₀ (2.45 mg/Kg).	88
Tabla 27. Resultados en mm de la lacrimación y sialorrea posterior a la inoculación de veneno de <i>T. festae</i> a la dosis de 0.5 DL ₅₀ (2.45 mg/Kg).	90
Tabla 28. Frecuencia de signos de envenenamiento en ratones al inocular veneno de <i>T. festae</i> con la dosis de 1 DL ₅₀ (4.9 mg/Kg).	92
Tabla 29. Resultados en mm de la lacrimación y salivación posterior a la inoculación de veneno de <i>T. festae</i> con la dosis 1 DL ₅₀ (4.9 mg/Kg).....	93
Tabla 30. Frecuencia de signos de envenenamiento en ratones al inocular veneno de <i>T. festae</i> con la dosis de 1.5 DL ₅₀ (7.35 mg/Kg).	95
Tabla 31. Resultados en mm de la lacrimación y salivación posterior a la inoculación de veneno de <i>T. festae</i> a la dosis de 1.5 DL ₅₀ (7.35 mg/Kg).	96
Tabla 32. Frecuencia de signos de envenenamiento en ratones al inocular veneno de <i>C. bicolor</i> con la dosis de 0.5 DL ₅₀ (1.7 mg/Kg).	98
Tabla 33. Resultados en mm de la lacrimación y sialorrea posterior a la inoculación de veneno de <i>C. bicolor</i> con la dosis de 0.5 DL ₅₀ (1.7 mg/Kg).	99
Tabla 34. Frecuencia de signos de envenenamiento en ratones al inocular veneno de <i>C. bicolor</i> con la dosis de 1 DL ₅₀ (3.4 mg/Kg).	101
Tabla 35. Resultados en mm de la lacrimación y sialorrea posterior a la inoculación de veneno de <i>C. bicolor</i> con la dosis de 1 DL ₅₀ (3.4 mg/Kg).	102
Tabla 36. Frecuencia de signos de envenenamiento en ratones al inocular veneno de <i>C. bicolor</i> con la dosis de 1.5 DL ₅₀ (5.1 mg/Kg).	104
Tabla 37. Resultados en mm de la lacrimación y sialorrea posterior a la inoculación de veneno de <i>C. bicolor</i> con la dosis de 1.5 DL ₅₀ (5.1 mg/Kg).	105
Tabla 38. Frecuencia de signos de envenenamiento en ratones al inocular veneno de <i>C. limbatus</i> con la dosis de 0.5 DL ₅₀ (2.85 mg/Kg).	107

Tabla 39. Resultados en mm de la lacrimación y sialorrea posterior a la inoculación de veneno de <i>C. limbatus</i> con la dosis de 0.5 DL ₅₀ (2.85 mg/Kg).	108
Tabla 40. Frecuencia de signos de envenenamiento en ratones al inocular veneno de <i>C. limbatus</i> con la dosis de 1 DL ₅₀ (5.7 mg/Kg).	110
Tabla 41. Resultados en mm de la lacrimación y salivación posterior a la inoculación de veneno de <i>C. limbatus</i> con la dosis de 1 DL ₅₀ (5.7 mg/Kg).	111
Tabla 42. Frecuencia de signos de envenenamiento en ratones al inocular veneno de <i>C. limbatus</i> con la dosis de 1.5 DL ₅₀ (8.55 mg/Kg).	113
Tabla 43. Resultados en mm de la lacrimación y sialorrea posterior a la inoculación de veneno de <i>C. limbatus</i> con la dosis de 1.5 DL ₅₀ (8.55 mg/Kg).	114
Tabla 44. Resultados de hemograma en ratones al inocular veneno de <i>Tityus (Atreus) sp.</i> con la dosis de 0.5 DL ₅₀ (2.1 mg/Kg).	115
Tabla 45. Resultados de hemograma en ratones al inocular veneno de <i>Tityus (Atreus) sp.</i> con la dosis de 1 DL ₅₀ (4.2 mg/Kg).	116
Tabla 46. Resultados de hemograma en ratones al inocular veneno de <i>Tityus (Atreus) sp.</i> con la dosis de 1.5 DL ₅₀ (6.3 mg/Kg).	117
Tabla 47. Hemograma completo de ratones al inocular veneno de <i>T. championi</i> con la dosis de 0.5 DL ₅₀ (1.45 mg/Kg).	120
Tabla 48. Hemograma completo de ratones al inocular veneno de <i>T. championi</i> con la dosis de 1 DL ₅₀ (2.9 mg/Kg).	121
Tabla 49. Hemograma completo de ratones al inocular veneno de <i>T. championi</i> a la dosis de 1.5 DL ₅₀ (4.35 mg/Kg).	122
Tabla 50. Hemograma completo de ratones al inocular veneno de <i>T. festae</i> a la dosis de 0.5 DL ₅₀ (2.45 mg/Kg).	124
Tabla 51. Hemograma completo de ratones al inocular veneno de <i>T. festae</i> a la dosis de 1 DL ₅₀ (4.9 mg/Kg).	125
Tabla 52. Hemograma completo de ratones al inocular veneno de <i>T. festae</i> a la dosis de 1.5 DL ₅₀ (7.35 mg/kg).	126
Tabla 53. Hemograma completo de ratones al inocular veneno de <i>C. bicolor</i> a la dosis de 0.5 DL ₅₀ (1.70 mg/Kg).	130
Tabla 54. Hemograma completo de ratones al inocular veneno de <i>C. bicolor</i> a la dosis de 1 DL ₅₀ (3.4 mg/Kg).	131

Tabla 55. Hemograma completo de ratones al inocular veneno de <i>C. bicolor</i> a la dosis de 1.5 DL ₅₀ (5.10 mg/Kg).....	132
Tabla 56. Hemograma completo de ratones al inocular veneno de <i>C. limbatus</i> con la dosis de 0.5 DL ₅₀ (2.85 mg/Kg).....	135
Tabla 57. Hemograma completo de ratones al inocular veneno de <i>C. limbatus</i> con la dosis de 1 DL ₅₀ (5.7 mg/Kg).....	136
Tabla 58. Hemograma completo de ratones al inocular veneno de <i>C. limbatus</i> con la dosis de 1.5 DL ₅₀ (8.55 mg/Kg).....	137
Tabla 59. Química sanguínea de ratones al inocular veneno de <i>Tityus (Atreus) sp.</i> con la dosis de 0.5 DL ₅₀ (2.1 mg/Kg).....	139
Tabla 60. Química sanguínea de ratones al inocular veneno de <i>Tityus (Atreus) sp.</i> con la dosis de 1 DL ₅₀ (4.2 mg/Kg).....	139
Tabla 61. Química sanguínea de ratones al inocular veneno de <i>Tityus (Atreus) sp.</i> con la dosis de 1.5 DL ₅₀ (6.3 mg/Kg).....	140
Tabla 62. Química sanguínea de ratones al inocular veneno de <i>T. championi</i> con la dosis de 0.5 DL ₅₀ (1.45 mg/Kg).....	145
Tabla 63. Química sanguínea de ratones al inocular veneno de <i>T. championi</i> a la dosis de 1 DL ₅₀ (2.9 mg/Kg).....	145
Tabla 64. Química de ratones al inocular veneno de <i>T. championi</i> con la dosis de 1.5 DL ₅₀ (4.35 mg/Kg).....	146
Tabla 65. Química sanguínea de ratones al inocular veneno de <i>T. festae</i> con la dosis de 0.5 DL ₅₀ (2.45 mg/Kg).....	151
Tabla 66. Química sanguínea de ratones al inocular veneno de <i>T. festae</i> con la dosis de 1 DL ₅₀ (4.9 mg/Kg).....	151
Tabla 67. Química sanguínea de ratones al inocular veneno de <i>T. festae</i> con la dosis de 1.5 DL ₅₀ (7.35 mg/Kg).....	152
Tabla 68. Química sanguínea de ratones al inocular veneno de <i>C. bicolor</i> con la dosis de 0.5 DL ₅₀ (1.70 mg/Kg).....	157
Tabla 69. Química sanguínea de ratones al inocular veneno de <i>C. bicolor</i> a la dosis de 1 DL ₅₀ (3.4 mg/Kg).....	157
Tabla 70. Química sanguínea de ratones al inocular veneno de <i>C. bicolor</i> con la dosis de 1.5 DL ₅₀ (5.10 mg/Kg).....	158

Tabla 71. Química sanguínea de ratones al inocular veneno de <i>C. limbatus</i> con la dosis de 0.5 DL ₅₀ (2.85 mg/Kg).....	162
Tabla 72. Química sanguínea de ratones al inocular veneno de <i>C. limbatus</i> con la dosis de 1 DL ₅₀ (5.7 mg/Kg).....	163
Tabla 73. Química sanguínea de ratones al inocular veneno de <i>C. limbatus</i> con la dosis de 1.5 DL ₅₀ (8.55 mg/Kg).....	163
Tabla 74. Niveles de la enzima CK en ratones inoculados con fracciones del veneno de <i>Tityus (Atreus) sp.</i>	169
Tabla 75. Actividad hialuronidasa con fracciones del veneno de <i>Tityus (Atreus) sp.</i>	170

ÍNDICE DE GRÁFICAS

Gráfico 1. Comportamiento del hematocrito en ratones después de recibir veneno de <i>Tityus (Atreus)</i> <i>sp.</i> en diferentes dosis.	118
Gráfico 2. Comportamiento de los glóbulos blancos en ratones después de recibir veneno de <i>Tityus (Atreus)</i> <i>sp.</i> en diferentes dosis.	118
Gráfico 3. Comportamiento de los neutrófilos en ratones después de recibir veneno de <i>Tityus (Atreus)</i> <i>sp.</i> en diferentes dosis.	119
Gráfico 4. Comportamiento de las plaquetas en ratones después de recibir veneno de <i>Tityus (Atreus)</i> <i>sp.</i> en diferentes dosis.	119
Gráfico 5. Comportamiento de las plaquetas en ratones después de recibir veneno de <i>T. championi</i> en diferentes dosis.	123
Gráfico 6. Comportamiento de la amplitud de distribución eritrocitaria en ratones después de recibir veneno de <i>T. championi</i> en diferentes dosis.	123
Gráfico 7. Comportamiento de la hemoglobina en ratones después de recibir veneno de <i>T. festae</i> en diferentes dosis.	127
Gráfico 8. Comportamiento del hematocrito en ratones después de recibir veneno de <i>T. festae</i> en diferentes dosis.	127
Gráfico 9. Comportamiento del volumen corpuscular medio en ratones después de recibir veneno de <i>T. festae</i> en diferentes dosis.	128
Gráfico 10. Comportamiento de la hemoglobina corpuscular media en ratones después de recibir veneno de <i>T. festae</i> en diferentes dosis.	128
Gráfico 11. Comportamiento de los neutrófilos en ratones después de recibir veneno de <i>T. festae</i> en diferentes dosis.	129
Gráfico 12. Comportamiento de las plaquetas en ratones después de recibir veneno de <i>T. festae</i> en diferentes dosis.	129
Gráfico 13. Comportamiento del volumen corpuscular medio en ratones después de recibir veneno de <i>C. bicolor</i> en diferentes dosis.	133
Gráfico 14. Comportamiento de los glóbulos blancos en ratones después de recibir veneno de <i>C. bicolor</i> en diferentes dosis.	133
Gráfico 15. Comportamiento de los neutrófilos en ratones después de recibir veneno de <i>C. bicolor</i> en diferentes dosis.	134
Gráfico 16. Comportamiento de las plaquetas en ratones después de recibir veneno de <i>C. bicolor</i> en diferentes dosis.	134

Gráfico 17. Comportamiento de los glóbulos blancos en ratones después de recibir veneno de <i>C. limbatus</i> en diferentes dosis.	138
Gráfico 18. Comportamiento de la glucosa en ratones después de recibir veneno de <i>Tityus (Atreus) sp.</i> en diferentes dosis.	141
Gráfico 19. Comportamiento de la amilasa en ratones después de recibir veneno de <i>Tityus (Atreus) sp.</i> en diferentes dosis.	141
Gráfico 20. Comportamiento de la CK en ratones después de recibir veneno de <i>Tityus (Atreus) sp.</i> en diferentes dosis.	142
Gráfico 21. Comportamiento de la CK-MB en ratones después de recibir veneno de <i>Tityus (Atreus) sp.</i> en diferentes dosis.	142
Gráfico 22. Comportamiento de la creatinina en ratones después de recibir veneno de <i>Tityus (Atreus) sp.</i> en diferentes dosis.	143
Gráfico 23. Comportamiento del nitrógeno de urea en ratones después de recibir veneno de <i>Tityus (Atreus) sp.</i> en diferentes dosis.	143
Gráfico 24. Comportamiento del sodio en ratones después de recibir veneno de <i>Tityus (Atreus) sp.</i> en diferentes dosis.	144
Gráfico 25. Comportamiento de la glucosa en ratones después de recibir veneno de <i>T. championi</i> en diferentes dosis.	147
Gráfico 26. Comportamiento de la amilasa en ratones después de recibir veneno de <i>T. championi</i> en diferentes dosis.	147
Gráfico 27. Comportamiento de la CK en ratones después de recibir veneno de <i>T. championi</i> en diferentes dosis.	148
Gráfico 28. Comportamiento de la CK-MB en ratones después de recibir veneno de <i>T. championi</i> en diferentes dosis.	148
Gráfico 29. Comportamiento de la creatinina en ratones después de recibir veneno de <i>T. championi</i> en diferentes dosis.	149
Gráfico 30. Comportamiento del nitrógeno de urea en ratones después de recibir veneno de <i>T. championi</i> en diferentes dosis.	149
Gráfico 31. Comportamiento del sodio en ratones después de recibir veneno de <i>T. championi</i> en diferentes dosis.	150
Gráfico 32. Comportamiento de la glucosa en ratones después de recibir veneno de <i>T. festae</i> en diferentes dosis.	153

Gráfico 33. Comportamiento de la amilasa en ratones después de recibir veneno de <i>T. festae</i> en diferentes dosis.....	153
Gráfico 34. Comportamiento de la CK en ratones después de recibir veneno de <i>T. festae</i> en diferentes dosis.....	154
Gráfico 35. Comportamiento de la CK-MB en ratones después de recibir veneno de <i>T. festae</i> en diferentes dosis.....	154
Gráfico 36. Comportamiento de la creatinina en ratones después de recibir veneno de <i>T. festae</i> en diferentes dosis.....	155
Gráfico 37. Comportamiento del nitrógeno de urea en ratones después de recibir veneno de <i>T. festae</i> en diferentes dosis.....	155
Gráfico 38. Comportamiento del sodio en ratones después de recibir veneno de <i>T. festae</i> en diferentes dosis.....	156
Gráfico 39. Comportamiento de la glucosa en ratones después de recibir veneno de <i>C. bicolor</i> en diferentes dosis.....	159
Gráfico 40. Comportamiento de la amilasa en ratones después de recibir veneno de <i>C. bicolor</i> en diferentes dosis.....	159
Gráfico 41. Comportamiento de la CK en ratones después de recibir veneno de <i>C. bicolor</i> en diferentes dosis.....	160
Gráfico 42. Comportamiento de la CK-MB en ratones después de recibir veneno de <i>C. bicolor</i> en diferentes dosis.....	160
Gráfico 43. Comportamiento de la creatinina en ratones después de recibir veneno de <i>C. bicolor</i> en diferentes dosis.....	161
Gráfico 44. Comportamiento del sodio en ratones después de recibir veneno de <i>C. bicolor</i> en diferentes dosis.....	161
Gráfico 45. Comportamiento de la glucosa en ratones después de recibir veneno de <i>C. limbatus</i> en diferentes dosis.....	164
Gráfico 46. Comportamiento de la amilasa en ratones después de recibir veneno de <i>C. limbatus</i> en diferentes dosis.....	165
Gráfico 47. Comportamiento de la CK en ratones después de recibir veneno de <i>C. limbatus</i> en diferentes dosis.....	165
Gráfico 48. Comportamiento de la CK-MB en ratones después de recibir veneno de <i>C. limbatus</i> en diferentes dosis.....	166

Gráfico 49. Comportamiento de la creatinina en ratones después de recibir veneno de <i>C. limbatus</i> en diferentes dosis.....	166
Gráfico 50. Comportamiento del sodio en ratones después de recibir veneno de <i>C. limbatus</i> en diferentes dosis.....	167
Gráfico 51. Actividad mitotóxica del veneno crudo y de las toxinas de <i>Tityus (Atreus) sp.</i>	169

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Anatomía de escorpión (Buthidae).	13
Figura 2. <i>Tityus (Atreus) sp.</i>	15
Figura 3. <i>Tityus (Atreus) championi</i>	15
Figura 4. <i>Tityus (Atreus) festae</i>	16
Figura 5. <i>Centruroides bicolor</i>	17
Figura 6. <i>Centruroides limbatus</i>	17
Figura 7. Proporción relativa de los compuestos presentes en el veneno de <i>Tityus serrulatus</i>	18
Figura 8. Modelos 3D de las toxinas de canal de sodio.	22
Figura 9. Sitio de unión de las toxinas de escorpión α y β en los canales Nav.	23
Figura 10. Zonas de escorpionismo a nivel mundial.	35
Figura 11. Ratones de la cepa CD-1.....	40
Figura 12. Veneno de escorpión liofilizado	42
Figura 13. Espectrofotómetro modelo BioSpec-nano de la marca Shimadzu.	42
Figura 14. Administración de veneno de escorpión por vía i.v. en la vena caudal del ratón.	48
Figura 15. Extracción de sangre por vía i.c.....	49
Figura 16. Equipo de hematología veterinaria.	50
Figura 17. Frotis de sangre periférica	53
Figura 18. Administración de veneno de escorpión por vía i.m. en el músculo gastrocnemio del ratón.	66
Figura 19. Signos de envenenamiento después de inocular veneno de <i>Tityus (Atreus) sp.</i> con la dosis de 0.5 DL ₅₀	72
Figura 20. Signos de envenenamiento después de inocular veneno de <i>Tityus (Atreus) sp.</i> con la dosis de 1 DL ₅₀	75
Figura 21. Signos de envenenamiento después de inocular veneno de <i>Tityus (Atreus) sp.</i> con la dosis de 1.5 DL ₅₀	77
Figura 22. Signos de envenenamiento después de inocular veneno de <i>T. championi</i> con la dosis de 0.5 DL ₅₀	81
Figura 23. Signos de envenenamiento después de inocular veneno de <i>T. championi</i> con la dosis de 1 DL ₅₀	85
Figura 24. Signos de envenenamiento después de inocular veneno de <i>T. championi</i> con la dosis de 1.5 DL ₅₀	87

Figura 25. Signos de envenenamiento después de inocular veneno de <i>T. festae</i> con la dosis de 0.5 DL ₅₀	91
Figura 26. Signos de envenenamiento después de inocular veneno de <i>T. festae</i> con la dosis de 1 DL ₅₀	94
Figura 27. Signos de envenenamiento después de inocular veneno de <i>T. festae</i> con la dosis de 1.5 DL ₅₀	97
Figura 28. Signos de envenenamiento después de inocular veneno de <i>C. bicolor</i> a la dosis de 0.5 DL ₅₀	100
Figura 29. Signos de envenenamiento después de inocular veneno de <i>C. bicolor</i> con la dosis de 1 DL ₅₀	103
Figura 30. Signos de envenenamiento después de inocular veneno de <i>C. bicolor</i> con la dosis de 1.5 DL ₅₀	106
Figura 31. Signos de envenenamiento después de inocular veneno de <i>C. limbatus</i> con la dosis de 0.5 DL ₅₀	109
Figura 32. Signos de envenenamiento después de inocular veneno de <i>C. limbatus</i> con la dosis de 1 DL ₅₀	112
Figura 33. Signos de envenenamiento después de inocular veneno de <i>C. limbatus</i> con la dosis de 1.5 DL ₅₀	114
Figura 34. Perfil cromatográfico del veneno de <i>Tityus (Atreus) sp.</i>	168
Figura 35. Zimograma de actividad hialuronidasa en gel de poliacrilamida	170

ABREVIATURAS Y ACRÓNIMOS

5HT	5-hidroxitriptamina	BPP	Péptidos potenciadores de bradiquinina
5-HT3	Receptor de serotonina tipo 3	°C	Grado Celsius
α	alfa	<i>C. bicolor</i>	<i>Centruroides bicolor</i>
$\alpha 1$	alfa 1	<i>C. limbatus</i>	<i>Centruroides limbatus</i>
$\alpha 2$	alfa 2	<i>C. limpidus limpidus</i>	<i>Centruroides limpidus limpidus</i>
α -KTx	Toxina de canal de potasio tipo alfa	<i>C. margaritatus</i>	<i>Centruroides margaritatus</i>
Å	Ángstrom	Ca ²⁺	iones de Calcio
ACh	Acetilcolina	CavTxs	Toxinas de canal de calcio
ACTH	Hormona Adrenocorticotrópica	cGMP	Guanilato monofosfato cíclico
ADE	Amplitud de distribución eritrocitaria	CHCM	Concentración de hemoglobina corpuscular media
ADP	Adenosín difosfato	CK	Creatina kinasa
AH	Ácido hialurónico	CK-MB	Creatina kinasa fracción MB
AINES	Antiinflamatorio no esteroideo	Cl ⁻	iones de cloro
AST	Aspartato aminotransferasa	CITx	Clorotoxinas
ATP	Adenosín trifosfato	CNP	2-cloro-4-nitrofenol
β	beta	CNP-G2	2-cloro-4-nitrofenil- α -D-maltósido
$\beta 1$	beta 1	CNP-G3	2-cloro-p-nitrofenil- α -D-maltotriosídeo
$\beta 2$	beta 2		
β -KTx	Toxina de canal de potasio tipo beta		
BAS	Basófilo		
BHE	Barrera hematoencefálica		

Δ	Delta	<i>H. lunatus</i>	<i>Hadruiroides lunatus</i>
ΔA	Delta de absorbancia	HCl	Ácido clorhídrico
D2	Receptor de dopamina tipo 2	HCM	Hemoglobina corpuscular media
dcha.	Derecha	HCT	Hematocrito
dL	Decilitro	HDP	Péptidos de defensa del huésped
DL ₅₀	Dosis Letal 50	HGB	Hemoglobina
EAP	Edema agudo de pulmón	HK	Hexoquinasa
EDTA	Ácido etilendiaminotetraacético	RP-HPLC	Cromatografía líquida de alta resolución de fase reversa
ECG	Electrocardiograma	i.c	intracardiaco
EOS	Eosinófilo	IgG	Inmunoglobulina G
fL	Fentolitros	IL-1 β	Interleucina 1 beta
FPLC	Cromatografía líquida de presión de flujo	IL6	Interleucina 6
γ -KTx	Toxina de canal de potasio tipo gama	i.m.	intramuscular
g	gramo	i.v.	intravenoso
G3	Maltotriosa	izq.	Izquierda
G6PDH	Glucosa 6 fosfato deshidrogenasa	κ -KTx	Toxina de canal de potasio tipo kappa
GB	Glóbulos blancos	K ⁺	ión potasio
GOD	Glucosa oxidasa	KCl	Cloruro de potasio
GR	Glóbulos rojos	kDa	Kilodaltons
H1	Receptor de histamina tipo 1	kg	Kilogramo
H ₂ O	Agua	KvTx	Toxinas de canal de potasio
H ₂ O ₂	Peróxido de hidrógeno	L	Litro
		LDH	Lactato deshidrogenasa

LIN	Linfocitos	NEU	Neutrófilos
LRA	Lesión renal aguda	NH ₃	Amoníaco
LTB ₄	Leucotrienos	NH ₄ ⁺	Amonio
M	Molar	nm	nanómetro
M1	Receptore muscarínico tipo 1	NO	Óxido nítrico
M2	Receptore muscarínico tipo 2	NSA	Nodo sinoauricular generando
M3	Receptore muscarínico tipo 3	O ₂	Oxígeno
MEC	Matriz extracelular	ONPG	o-nitrofenol-β-D-galactopiranososa
mg	miligramo	PAF	Factor activador de plaqueta
mL	mililitro	PEP	Fosfoenolpiruvato
mm	milímetro	pg	picogramo
mmol	milimol	PGE ₂	Prostaglandinas E ₂
MON	Monocitos	PLA ₂	Fosfolipasas A ₂
N°	Número	PLT	Plaquetas
NA	Norepinefrina, Noradrenalina	POD	Peroxidasa
Na ⁺	Sodio	rpm	revoluciones por minuto
NaClO	Hipoclorito de sodio	RyR	Receptores de rianodina
NaCl	Cloruro de sodio	RyR1	Receptores de rianodina tipo 1
NADP/NADPH	Dinucleótido de nicotinamida y adenina monofosfato	RyR2	Receptores de rianodina tipo 2
NaOH	Hidróxido de sodio	RyR3	Receptores de rianodina tipo 3
Nav	Canales de sodio	SDRA	Síndrome de dificultad respiratoria aguda
NAV	Nodo auriculoventricular	SNA	Sistema nervioso autónomo
NavTx	Toxinas de canal de sodio	SNC	Sistema nervioso central

SSF	Solución salina fisiológica	<i>T. obscurus</i>	<i>Tityus obscurus</i>
<i>T. asthenes</i>	<i>Tityus asthenes</i>	<i>T. pachyurus</i>	<i>Tityus pachyurus</i>
<i>T. championi</i>	<i>Tityus championi</i>	<i>T. serrulatus</i>	<i>Tityus serrulatus</i>
<i>T. discrepans</i>	<i>Tityus discrepans</i>	<i>T. zulianus</i>	<i>Tityus zulianus</i>
<i>T. fasciolatus</i>	<i>Tityus fasciolatus</i>	TFA	Ácido trifluoroacético
<i>T. festae</i>	<i>Tityus festae</i>	TGI	Tracto gastrointestinal
<i>T. gonzalespongai</i>	<i>Tityus gonzalespongai</i>	TNF- α	Factor de Necrosis Tumoral alfa
<i>T. kaderkai</i>	<i>Tityus kaderkai</i>	U/L	Unidades por litro
<i>T. n. sp. af. metuendus</i>	<i>Tityus n. sp. af. metuendus</i>	μ L	microlitro
		μ g	microgramo
		VCM	Volumen corpuscular medio

Abreviaturas de instituciones

CIIMET	Centro de Investigación e Información de Medicamentos y Tóxicos
OMS	Organización Mundial de la Salud
CEIBAUP	Comité de Ética de la Investigación y el Bienestar de los Animales de la Universidad de Panamá
ECCLS	Comité Europeo de Estándares para Laboratorio Clínico
IFCC	Federación Internacional de Química Clínica

RESUMEN

El escorpionismo es un problema de salud en Panamá y dentro de los escorpiones de importancia médica están los géneros *Tityus* y *Centruroides*, incluyendo especies como *Tityus (Atreus) sp.*, *T. championi*, *T. festae*, *C. bicolor* y *C. limbatus*, cuyo veneno puede causar manifestaciones clínicas, así como alteraciones hematológicas y de química sanguínea. Por lo tanto, es crucial obtener datos sobre el envenenamiento y los aspectos toxinológicos de estos venenos mediante el uso de biomodelos experimentales. Los signos de envenenamiento se evaluaron mediante la técnica de tamizado hipocrático en ratones CD-1, a los cuales se les inoculó por vía intravenosa diferentes dosis correspondientes a 0.5, 1 y 1.5 DL₅₀ para cada veneno, las observaciones se registraron a los 0, 5, 15, 30, 60, 180 y 1440 minutos. Para los mismos tiempos, se recolectaron muestras de sangre mediante punción intracardiaca para pruebas hematológicas y de química sanguínea. Además, se realizó la separación cromatográfica del veneno de *Tityus (Atreus) sp.* por RP-HPLC utilizando una columna C4, se probaron fracciones para verificar aumento de la enzima CK en suero tras la inyección en el músculo gastrocnemios de ratón, y determinar actividad hialuronidasa en SDS-PAGE.

Como resultado, se demostró que los venenos de escorpión causan sialorrea, lagrimeo, cromodacriorrea, heces mucosas y taquipnea en 0.5 DL₅₀. La 1 DL₅₀ también indujo cola de Straub, piloerección y contracción abdominal. Cuando la dosis era de 1.5 DL₅₀, se registraron todos los signos anteriores además de ataxia, convulsiones, pérdida del reflejo de enderezamiento y muerte. Se registraron cambios en las tres series hematológicas en el hemograma. Los niveles de glucosa, amilasa, CK, CK-MB, creatinina, nitrógeno ureico y sodio aumentaron, mientras que los niveles de potasio no se vieron afectados. A su vez, no se registró alteración en la CK, al inocular las fracciones de veneno, sin embargo, se encontró que el veneno de *Tityus (Atreus) sp.* presenta actividad hialuronidasa.

Estos hallazgos contribuirán al manejo eficiente de los casos de escorpionismo en los servicios de emergencia de salud de nuestro país.

Palabras claves: escorpionismo, escorpión, *Tityus (Atreus) sp.*, *T. championi*, *T. festae*, *C. bicolor*, *C. limbatus*, envenenamiento experimental, hematología, alteraciones químicas, RP-HPLC, actividad hialuronidasa, Panamá

SUMMARY

Scorpionism is a health problem in Panama. Medically important scorpions belong to the *Tityus* and *Centruroides* genus, including species such as *Tityus (Atreus) sp.*, *T. championi*, *T. festae*, *C. bicolor*, and *C. limbatus*, which can cause clinical manifestations as well as hematological and blood chemistry alterations. Therefore, obtaining data is crucial to understand the envenomation and toxinelogical aspects of these venoms through the use of experimental biomodels. Signs of envenoming were evaluated using the Hippocratic screening technique in CD-1 mice, which were intravenously inoculated with doses corresponding to 0.5, 1, and 1.5 LD₅₀ for each venom. Observations were recorded at 0, 5, 15, 30, 60, 180, and 1440 minutes. At the same periods, blood samples for hematological and blood chemistry tests were collected by intracardiac puncture. Additionally, chromatographic separation of *Tityus (Atreus) sp.* venom was performed by RP-HPLC using a C4 column; such fractions were injected into mouse gastrocnemius muscles and then Creatine Kinase activity in serum was assessed, whereas hyaluronidase activity was tested in SDS-PAGE.

As a result, scorpion venoms were demonstrated to cause sialorrhea, lacrimation, chromodacryorrhea, mucous stools, and tachypnea at 0.5 LD₅₀. When the dose was increased to 1 LD₅₀, Straub's tail, piloerection, and abdominal contraction were additionally induced. Furthermore, ataxia, seizures, loss of righting reflex, and death were also observed when a dose of

1.5 LD₅₀ was applied. Changes in all three hematological series were recorded in the blood count. Glucose, amylase, CK, CK-MB, creatinine, urea nitrogen, and sodium levels increased, while potassium remained unaffected. Alterations in CK levels were not observed due to intramuscular injection of venom fractions; however, *Tityus (Atreus) sp.* venom exhibited hyaluronidase activity. These findings will contribute to the efficient management of scorpionism cases in the emergency health services of our country.

Key words: scorpionism, scorpion, *Tityus (Atreus) sp.*, *T. championi*, *T. festae*, *C. bicolor*, *C. limbatus*, experimental envenoming, hematology, chemical alterations, RP-HPLC, hyaluronidase activity, Panama

INTRODUCCIÓN

El escorpionismo o alacranismo se define como una enfermedad que se genera tras el contacto físico entre un escorpión y los seres humanos de forma accidental, lo que resulta en picadura e inyección del veneno, generando cuadros clínicos de envenenamiento que pueden ser leves, moderados, graves o letales (Mendoza-Tobar et al., 2021; Parma & Palladino, 2010), por lo que se considera un problema de salud pública en las regiones tropicales y subtropicales (De Araújo et al., 2017).

En Panamá, contamos con una gran diversidad de especies de escorpiones de importancia médica (Miranda & Armas, 2020), de particular interés clínico, los escorpiones pertenecientes a los géneros *Centruroides* y *Tityus* causan escorpionismo de manera frecuente y en algunos casos con consecuencias fatales, por tanto, es de interés su vigilancia epidemiológica, ya que en los últimos años se ha observado un incremento en los casos de envenenamiento por escorpión (Arjona C., 2022).

Panamá cuenta con una Guía de manejo integral de la picadura de escorpión (Ministerio de Salud, 2016), en donde clasifica el envenenamiento escorpiónico en tres categorías con algunos de los siguientes signos y síntomas: (1) envenenamiento leve: incluye dolor local, parestesias, hiperemia, sin alteración en pruebas de laboratorio; (2) envenenamiento moderado: presenta una clínica de leve a más, con presencia de náuseas y vómitos, dolor abdominal, sialorrea, estado de inquietud o intranquilidad, taquipnea, taquicardia, fasciculaciones, priapismo y se presenta aumento de la glucosa (>120 mg/dL), amilasa (>60 mg/dL), además se requiere colocación de antiveneno (2 ampollas) y (3) envenenamiento grave: se desarrolla clínica moderada más edema agudo de pulmón, arritmias cardíacas, pancreatitis aguda, convulsiones y, a veces, la muerte, parámetros como la glucosa se presenta >200 mg/dL y la amilasa >240 mg/dL, administración de antiveneno (4 ampollas).

En Panamá, existen regulaciones para la vigilancia epidemiológica del accidente escorpiónico, como lo establece en el Decreto Ejecutivo N° 1617 del 21 de octubre de 2014, sin embargo, aún existen muchos subregistros de casos de picaduras de escorpiones en el país. Además, hasta el momento se han realizado pocos estudios que involucren estudios en modelos experimentales sobre

las manifestaciones clínicas y hallazgos de laboratorio para cada especie de escorpión presente en el país. Por lo que existe la necesidad de caracterizar a nivel experimental y clínico el envenenamiento escorpiónico provocado por el veneno de especies altamente peligrosas como lo son *Tityus (Atreus) sp.* de Palmas Bellas, Colón, *Tityus (Atreus) championi (T. championi)* de Río Sereno, Chiriquí, *Tityus (Atreus) festae (T. festae)* de Chucantí, Darién, *Centruroides bicolor (C. bicolor)* de Potrerillos, Chiriquí y *Centruroides limbatus (C. limbatus)* de Chiriquí Grande, Bocas del Toro.

Por lo que, tener una información toxinológica y clínica mejoraría la comprensión sobre el adecuado manejo hospitalario de los pacientes picados por alguna de las especies de escorpiones aquí estudiados, optimizando el tratamiento para mejorar la calidad de vida de los pacientes; además, estos resultados experimentales serán útiles para la ciudadanía, los centros de investigación, autoridades del sistema de salud a nivel nacional, regional y local, las autoridades municipales y de corregimiento, para que puedan educarse en promoción de las medidas de prevención, protección y búsqueda oportuna de tratamiento en caso de una picadura por escorpión en la instalación de salud más cercana, ya que las picaduras por escorpión representan un problema de salud pública en nuestro país.

CAPÍTULO PRIMERO

MARCO CONCEPTUAL

1. Antecedentes del Estudio

1.1. Aspectos generales

1.1.1. Planteamiento del Problema

Las picaduras de escorpiones constituyen un problema de salud en Panamá (Borges et al., 2011) siendo así que, debido a la alta incidencia de casos de picaduras de escorpión que se presentan en los últimos años (61 casos por cada 100 000 habitantes en el año 2021), somos el segundo país en América Latina, después de México, con el mayor número de casos de escorpionismo; además, actualmente, se ha documentado la existencia, en el territorio panameño, de 16 especies de escorpiones, ubicadas en tres familias (Arjona C., 2022; Escudero-Sanjur et al., 2022). La familia Buthidae, es una de las familias de escorpiones de mayor importancia médica y dentro de ella, se encuentran los géneros *Tityus* y *Centruroides*, que presentan un mayor interés clínico; en Panamá, *Tityus (Atreus) sp.*, *T. championi*, *T. festae*, *C. bicolor* y *C. limbatus* son especies de escorpiones que han sido identificadas en provincias específicas de nuestro país y han causado envenenamientos leves, moderados y graves (Borges et al., 2012, Miranda et al., 2019).

Cabe mencionar, que a pesar de que los venenos de escorpiones actúan sobre membranas de células de tejidos excitables de diferentes órganos de manera similar (Borges et al., 2011), se ha observado en casos de escorpionismo, que existen diferencias entre los síntomas de envenenamiento y alteraciones de laboratorio causados por escorpiones de diferentes géneros y especies (Miranda et al., 2019), sin embargo, en Panamá, se cuenta con poca información de estudios en modelos experimentales sobre las manifestaciones clínicas y hallazgos de laboratorio para cada especie de escorpión presente en el país; sin embargo, (Salazar et al., 2018, 2023) realizaron ensayos de evaluación de actividad biológica en ratones de las fracciones mayoritarias de los venenos de 4 especies del género *Tityus* y 4 especies del género *Centruroides* obtenidas por separación de cromatografía líquida de fase reversa (HPLC). Cabe mencionar que existen guías generales que abarcan las principales manifestaciones clínicas y su manejo, independientemente de la especie de escorpión (Ministerio de Salud, 2016). Por lo tanto, la pregunta clave en esta investigación es: ¿Cuáles son los efectos toxinológicos agudos en ratones producido por diferentes venenos de escorpiones de los géneros *Tityus* y *Centruroides* que habitan en Panamá?

1.1.2. Justificación del Estudio

Las investigaciones en escorpionismo que existen en nuestro país se enfocan en aspectos epidemiológicos y en el cuadro clínico asociado al envenenamiento de forma general (Arjona, 2017; Borges et al., 2012). Por lo que este estudio, busca generar evidencia científica en un biomodelo experimental que contribuya a conocer los efectos toxinológicos causados por el veneno completo de diferentes escorpiones panameños, lo cual nos llevaría a sugerir los mejores procesos en el manejo clínico ante el envenenamiento provocado por cada escorpión.

En cuanto al fraccionamiento del veneno de *Tityus (Atreus) sp.*, es importante evaluar las fracciones que estén involucradas en el aumento de la enzima CK, ya que se ha demostrado de forma experimental que el veneno completo causa efectos tóxicos, como parálisis de patas y un aumento de dicha enzima en suero de ratones (Morán González, 2018). Además, evaluar la actividad enzimática de la hialuronidasa, es muy importante, pues se ha evidenciado que, esta enzima guarda una estrecha relación con el desarrollo de los efectos toxinológicos que se presentan en los casos de escorpionismo, al actuar como catalizadoras del envenenamiento escorpiónico (Pessini et al., 2001). Con esta información, se puede sugerir que se produzcan anticuerpos antihialuronidasa y que, sean parte del coctel de suero antiescorpiónico, ya que, para la enzima hialuronidasa, se ha demostrado que su inhibición e inmunoneutralización disminuye los efectos tóxicos observados en los casos de escorpionismo (Horta et al., 2014).

Por otra parte, la información que se genere a partir de esta investigación será útil para la ciudadanía, los centros de investigación, autoridades del sistema de salud a nivel nacional, regional y local, además, con este conocimiento, podremos en forma consecuente, realizar una búsqueda racional de nuevos enfoques de tratamientos (antídotos) que sirvan para apoyar la atención oportuna y adecuada del paciente en un corto de tiempo para evitar las complicaciones y muerte por este tipo de envenenamiento, lo que contribuye a la basta información que se debe tener para la producción de un fármaco, en este caso el suero antiescorpiónico como tratamiento dirigido al paciente que ha sido picado por un escorpión, como lo apoya el proyecto de Ley 421 del 6 de febrero de 2024 en la República de Panamá.

1.1.3.Hipótesis

Los venenos de escorpiones *Tityus (Atreus) sp.*, *Tityus (Atreus) championi*, *Tityus (Atreus) festae*, *Centruroides bicolor* y *Centruroides limbatus* de Panamá administrados en ratones con diferentes dosis inducen efectos toxinológicos.

1.1.4.Objetivos del estudio

Objetivo general

Evaluar los efectos toxinológicos en ratones de los venenos de escorpiones de los géneros *Tityus* y *Centruroides* de Panamá mediante las manifestaciones clínicas y los hallazgos de laboratorio.

Objetivos específicos

1. Evidenciar los signos de intoxicación del envenenamiento agudo mediante la técnica del tamizado hipocrático en los diferentes sistemas que producen diferentes dosis de los venenos de tres especies de escorpiones del género *Tityus* y dos especies del género *Centruroides* administrados en ratones CD-1.
2. Evaluar las alteraciones en el hemograma completo producto del envenenamiento agudo causados por diferentes dosis de los venenos de tres especies de escorpiones del género *Tityus* y dos especies del género *Centruroides* en ratones CD-1 por técnicas de espectrofotometría, principio Coulter y frotis de sangre periférica.
3. Determinar cambios en los parámetros de glucosa, amilasa, CK, CK-MB, creatinina, nitrógeno de urea, sodio y potasio durante la fase del envenenamiento agudo causado por diferentes dosis de los venenos de tres especies de escorpiones del género *Tityus* y dos especies del género *Centruroides* en ratones CD-1 mediante la técnica de espectrofotometría UV/visible.
4. Fraccionar por técnicas cromatográficas el veneno de *Tityus (Atreus) sp.*
5. Evaluar la actividad biológica *in vivo* e *in vitro* de algunas fracciones del veneno de *Tityus (Atreus) sp.*

1.2. Cobertura del estudio

El estudio realizado con los venenos de *Tityus (Atreus) sp*, *T. championi*, *T. festae*, *C. bicolor* y *C. limbatus* en animales de experimentación que han sido evaluados de forma *in vivo*, nos permite conocer las manifestaciones toxinológicas que genera cada una de estas especies de escorpiones estudiados, haciendo uso de la técnica del tamizado hipocrático, así como, las alteraciones causadas a nivel hematológico y bioquímico. Esta información generada nos ayudará a comprender los efectos que se presentan en las personas que sufren un envenenamiento escorpiónico, por lo que, esta data generada la podremos consolidar para que se dé un abordaje clínico más orientado que involucre instaurar de forma rápida las medidas de sostén, al igual que, la aplicación del tratamiento específico como lo es la administración del suero antiescorpiónico y manejo de síntomas para prevenir las complicaciones y secuelas, ya que en los envenenamientos sistémicos pueden generar complicaciones severas, y una vez hayan sido desarrolladas difícilmente pueden llegar a ser neutralizadas con el uso del antiveneno, puesto que la cascada de eventos son causados indirectamente por el veneno.

Además, teniendo este conocimiento toxinológico y sustentado con los reportes de la clínica del paciente, podremos, consecuentemente, producir un antiveneno escorpiónico más dirigido a las especies de escorpiones panameñas, haciendo uso de la Ley 421 del 6 de febrero de 2024, entendiendo que la toxicidad de estos venenos varía según la especie del escorpión y la región geográfica, por tanto, es difícil que un mismo antiveneno sea eficaz contra los venenos de diferentes especies, tal es el caso del suero antiescorpiónico que se utiliza actualmente en nuestro país, ya que proviene de Venezuela y neutraliza el veneno de escorpiones del género *Tityus*, sin embargo, su eficacia es limitada contra las especies de *Tityus* de Panamá, más aún, los efectos toxicológicos causados por los venenos de escorpiones del género *Centruroides* que no los neutraliza o lo hace de manera ineficiente (Borges et al., 2012). Por lo tanto, esto cubriría una necesidad en el país, al tener un mejor tratamiento específico para los pacientes y que, además, pueda tener mayor disponibilidad en las instalaciones de salud de los lugares con mayores riesgos de accidentes escorpiónicos fatales, con la probabilidad de tener una menor tasa de letalidad por picadura de escorpiones en Panamá.

1.3. Limitaciones

Para este estudio se considera que no hubo ninguna condición que impidiera llegar al cumplimiento de los objetivos, por lo tanto, podemos decir se puede decir que no presentó ninguna limitante.

CAPÍTULO SEGUNDO

MARCO TEÓRICO-REFERENCIAL

2. Los escorpiones

Los escorpiones o alacranes son artrópodos venenosos, carnívoros, nocturnos y muy antiguos que datan su origen, aproximadamente, 450 millones de años (Almeida et al., 2021; Feola et al., 2020). En este transcurso de millones de años en tiempo evolutivo, los escorpiones han desarrollado venenos que ejercen actividades tóxicas en una amplia gama de objetivos biológicos (Sunagar et al., 2013).

Los escorpiones se encuentran distribuidos en casi toda la superficie del mundo, y pueden vivir en una amplia diversidad de ambientes, con excepción del Ártico, la Antártica y las altas cumbres nevadas; principalmente, se les encuentra en países de zonas tropicales y subtropicales (De Roodt, 2015). Los escorpiones pertenecen al Phylum Arthropoda, Subphylum Chelicerata, clase Arachnida, orden Scorpionida (Gómez C. & Otero, 2007). En América, los escorpiones de importancia médica pertenecen a la familia Buthidae, dentro de ella, el género *Centruroides* se distribuye, principalmente, desde el sur de Estados Unidos, México, Centroamérica, Islas del Caribe, Colombia, Ecuador y Perú (Escudero-Sanjur et al., 2022) y el género *Tityus* se distribuye desde México hasta Argentina, incluidas las Islas del Caribe (Ahmadi et al., 2020; De Araújo et al., 2017; Giambelluca et al., 2021).

El cuerpo de los escorpiones se puede dividir en dos partes: el prosoma o cefalotórax que incluye la cabeza y el tórax; y el opistosoma o abdomen, que, a su vez, está dividido en mesosoma y metasoma. El metasoma es la parte más ancha del cuerpo y consta de 7 segmentos, mientras que, el metasoma o cola, está formado por 5 segmentos; como se muestra en la **Figura 1**. Al final del metasoma, se encuentra el telson o acúleos, que es un bulbo que contiene un par de glándulas venenosas y un aguijón afilado y curvo, que también es conocido como acúleo, es por allí que se expulsa el veneno que estos escorpiones utilizan tanto para la captura de presas como para la defensa (Lourenço, 2020; Solano-Godoy et al., 2021; Yigit & Benli, 2010).

Los accidentes escorpiónicos ocurren principalmente cuando se realizan actividades en donde viven los escorpiones o por el ingreso de éstos a las viviendas humanas, como un reflejo de protección que poseen estos arácnidos al sentirse amenazados por la presencia humana; son animales que

tienen hábitos nocturnos y sigilosos, la mayoría de las veces se les encuentra ocultos en troncos, grietas bajo las piedras, solo salen para alimentarse, principalmente, de artrópodos, como grillos y cucarachas, de estas se sabe que son su dieta preferida (Borges, 2011; Miranda et al., 2015; Quintero-Hernández et al., 2013; Soto-Alfaro et al., 2019).

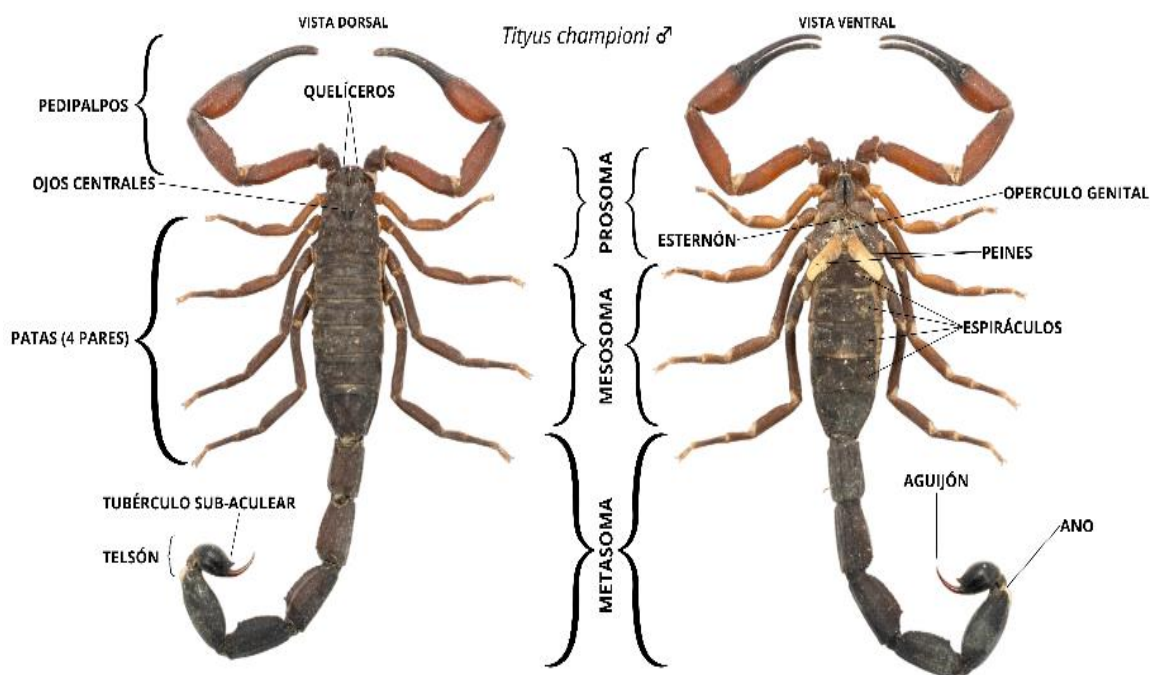


Figura 1. Anatomía de escorpión (Buthidae).

Foto: E. Leiva, M. Barria & C. Morán

2.1. Lista de escorpiones que se encuentran en Panamá

Actualmente, se ha documentado la existencia en el territorio panameño de 3 familias de escorpiones, con 5 géneros y 16 especies, como se detalla en la **Tabla 1** (Miranda & Armas, 2020). La familia Buthidae es la familia que constituye el mayor número de especies a nivel mundial y es la de mayor importancia médica y epidemiológica (Gómez & Otero, 2007; Gómez et al., 2010). En Panamá, esta familia está representada por tres géneros: *Ananteris* con dos especies, *Centruroides* con 5 especies, y *Tityus* con 7 especies.

Tabla 1. Lista de escorpiones de Panamá

Familia	Género	Subgénero	Especie
Buthidae	<i>Ananteris</i>		<i>Ananteris canalera</i> (Miranda & Armas, 2020)
			<i>Ananteris platnicki</i> (Lourenço, 1993)
	<i>Centruroides</i>		<i>Centruroides bicolor</i> (Pocock, 1898)
			<i>Centruroides granosus</i> (Thorell, 1876)
			<i>Centruroides limbatus</i> (Pocock, 1898)
			<i>Centruroides margaritatus</i> (Gervais, 1841)
			<i>Centruroides panamensis</i> (Quintero & Esposito, 2014)
	<i>Tityus</i>	<i>Archaeotityus</i>	<i>Tityus ocelote</i> (Francke & Stockwell, 1987)
			<i>Tityus tayrona</i> (Lourenço, 1991)
		<i>Atreus</i>	<i>Tityus sp.</i>
			<i>Tityus championi</i> Pocock, 1898
			<i>Tityus festae</i> Borelli, 1899
			<i>Tityus jaime</i> (Miranda, Bermúdez, Flores y Armas, 2020)
		<i>Tityus</i>	<i>Tityus cerroazul</i> Lourenço, 1986
Hurmuridae	<i>Opisthacanthus</i>		<i>Opisthacanthus elatus</i> (Gervais, 1844)
Chactidae	<i>Chactas</i>		<i>Chactas exsul</i> (Werner, 1939)
Información tomada de: (Borges, et al., 2011,2012; Lourenço & Méndez, 1984; Ministerio de Salud, 2016; Miranda & Armas, 2020; Miranda et al., 2019, 2020; Murgas et al., 2020; Teruel & Cozijn, 2011)			

2.2. Distribución geográfica de los escorpiones involucrados en este estudio

A continuación, se visualiza la distribución geográfica de los escorpiones utilizados en este estudio:

a. *Tityus (Atreus) sp.*

El escorpión *Tityus (Atreus) sp.* es una especie partenogénica (Cleghorn, 2021), los escorpiones adultos son robustos y de gran tamaño, generalmente presentan cutículas pigmentadas y son de color oscuro o negro, como se muestra en la **Figura 2a**. Se les suele encontrar en árboles, piedras, madrigueras, leña. En nuestro país, hasta el momento, se le ha encontrado en las provincias de Colón, Darién, Panamá y Panamá Oeste muy cerca del área canalera, como se ve en la **Figura 2b**, se puede observar los puntos donde se han realizado colectas de este ejemplar, esta especie de escorpión se encuentra involucrado en casos de envenenamientos graves y fatales en Panamá (Borges et al., 2011, Díaz et al., 2023).

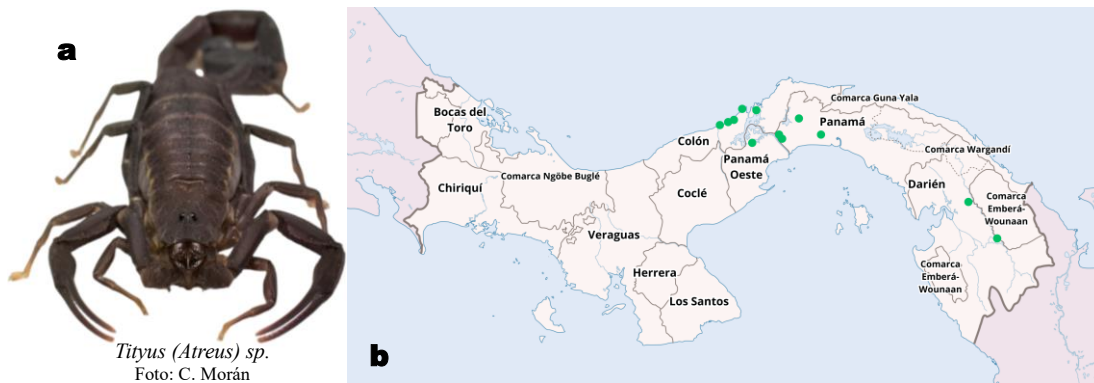


Figura 2. *Tityus (Atreus) sp.*

a. Escorpión adulto de *Tityus (Atreus) sp.* b. Mapa de puntos de colecta de especímenes en las provincias de Colón, Darién, Panamá y Panamá Oeste. Mapa cortesía de E. Leiva & M. Barria

b. *Tityus (Atreus) championi* Pocock, 1898

Este escorpión fue descrito por Pocock (1898) a partir de un ejemplar de Bugaba, Chiriquí; es un escorpión de gran tamaño que pueden medir entre 77 – 88 mm los machos y 64 – 65 mm las hembras; los adultos presentan una coloración pardo rojizo oscuro con un patrón difuso de manchas castañas, como se observa en la **Figura 3a**. En los juveniles, la coloración es amarilla pálida con un patrón denso y manchas bien definidas color castaño. Se sabe que, es una especie endémica de Costa Rica y Panamá. Son de bosques primarios húmedos, de áreas destinadas a las actividades agrícolas y se pueden encontrar en troncos, ramas y hojas grandes. En la provincia de Chiriquí, hasta el momento, se le ha ubicado en los distritos de Bugaba, Dolega y Renacimiento, en la **Figura 3b**, se puede observar los puntos donde se han realizado colectas de este ejemplar, esta especie se ha visto participe de envenenamiento moderado y graves (Miranda et al., 2019; Teruel, 2012)



Figura 3. *Tityus (Atreus) championi*

a. Escorpión adulto de *T. championi*. b. Mapa de puntos de colecta de especímenes en la provincia de Chiriquí. Mapa cortesía de E. Leiva & M. Barria.

c. *Tityus (Atreus) festae* Borelli, 1899

El escorpión *T. festae*, fue descrito a partir de un ejemplar obtenido de Darién, Panamá; es el escorpión del género *Tityus* más grande del país, llegando a medir entre 90 – 100 mm de longitud y presenta una coloración negra, como se observa en la **Figura 4a**. Pueden llegar a tener, aproximadamente, 20 crías en una camada. Se ha reportado su presencia en Colombia y Panamá. Estos escorpiones se pueden encontrar, principalmente, en árboles. En nuestro país hasta el momento se le ha encontrado en las provincias de Darién, Guna Yala y Panamá; en la **Figura 4b**, se muestran los puntos donde se han realizado colectas de este ejemplar. Se ha reportado que causó la muerte de una niña de 5 años en la región de El Llano-Cartí, Chepo, Panamá; también la muerte de un niño de 6 años (Borges, et al., 2011,2012; Lourenço & Méndez, 1984).



Figura 4. *Tityus (Atreus) festae*

a. Escorpión adulto de *T. festae*. b. Mapa de puntos de colecta de especímenes en las provincias de Darién y Panamá. Mapa cortesía de E. Leiva & M. Barria

d. *Centruroides bicolor* (Pocock, 1898)

C. bicolor es el escorpión más grande que habita en Panamá, llegando a medir entre 100 – 120 mm de longitud; además, es de coloración marrón oscuro en el área del cefalotórax y de las tenazas; también, en el último segmento de la cola, las patas y el abdomen suelen ser de color amarillo, como se muestra en la **Figura 5a**. Se ha reportado su presencia en Costa Rica y Panamá. Estos escorpiones pueden encontrarse en troncos de árboles que tengan agujeros, rendijas y lugares oscuros donde puedan ocultarse, rendijas de troncos podridos, además, suele encontrarse en el interior de las casas. En nuestro país, hasta el momento, se le ha encontrado en las provincias de Chiriquí y Veraguas, la **Figura 5b** muestra los puntos donde se han realizado colectas de este ejemplar, su picadura es muy dolorosa y no se ha reportado fatalidad, sin embargo, si se ha asociado a casos de envenenamiento graves (Borges et al., 2011; Salazar et al., 2018).

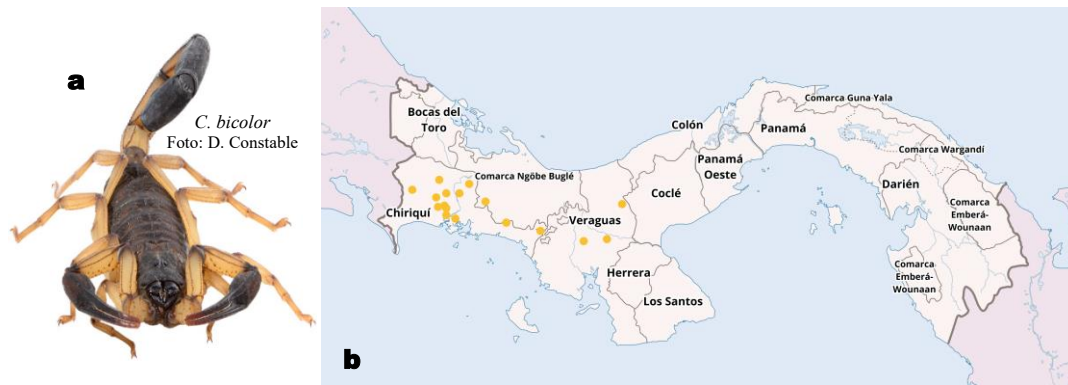


Figura 5. *Centruroides bicolor*

a. Escorpión adulto de *C. bicolor*. b. Mapa de puntos de colecta de especímenes en las provincias de Chiriquí, Veraguas y en la Comarca Ngäbe-Buglé. Mapa cortesía de E. Leiva & M. Barría

e. Centruroides limbatus (Pocock, 1898)

El escorpión *C. limbatus*, es un escorpión que puede medir entre 65 – 115 mm de longitud y presenta una coloración dismórfica encontrándose en color bermejo, como lo muestra la **Figura 6a** y color ocre como se aprecia en la **Figura 6b**. Se ha reportado su presencia en Costa Rica, Honduras, Nicaragua y Panamá. Estos escorpiones pueden encontrarse en troncos de árboles que tengan agujeros y lugares oscuros donde puedan ocultarse, también, suelen hallarse en el interior de las casas. En nuestro país, se ha reportado su presencia en la región de Chiriquí Grande, en la provincia de Bocas del Toro, como se observa en la **Figura 6c**, pero es posible que posea una distribución más amplia en la vertiente Atlántica de Panamá (Montoya & De Armas, 2002). Hasta la fecha, solo se ha publicado un relato clínico de envenenamiento moderado por esta especie Centroamérica, y fue de una dama de 67 años, en Estados Unidos, por lo que es un caso de reporte extranjero por ser exportado el espécimen (Borges et al., 2011, 2012).

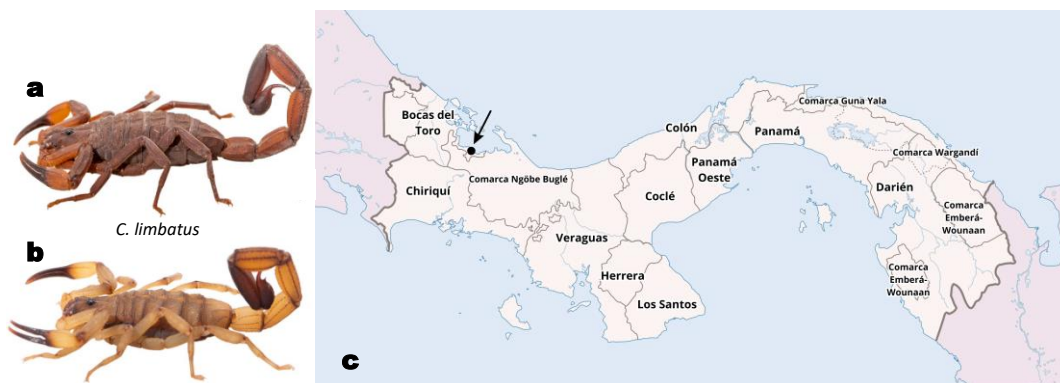


Figura 6. *Centruroides limbatus*

a. Escorpión adulto de *C. limbatus* en color bermejo. b. Escorpión adulto de *C. limbatus* en color ocre. c. Mapa de puntos de colecta de especímenes (Provincia de Bocas del Toro). Mapa cortesía de E. Leiva & M. Barría

2.3. Veneno de los escorpiones

Los escorpiones en su última porción de la cola tienen el telson; allí se encuentra un par de glándulas productoras de venenos, estas glándulas contienen un epitelio secretor que produce el veneno y están rodeadas por capas musculares de forma radial y en la parte lateral se encuentran en contacto directo con la endocutícula del telson, de esta manera, la contracción de estos músculos provoca que la glándula venenosa haga compresión contra la pared de la cutícula y se dé la expulsión del veneno (Borges et al., 2011; Lourenço, 2020; Simone & Van Der Meijden, 2021).

La toxicidad del veneno de escorpión varía entre diferentes especies y entre escorpiones de una misma especie de diferentes regiones (De Araújo et al., 2017). Este veneno está compuesto por fracciones no tóxicas y fracciones tóxicas, como se muestra en la **Figura 7** (Laraba-Djebari et al., 2015). La fracción no tóxica está compuesta por aminoácidos libres, sales orgánicas, componentes heterocíclicos, aminas biógenas, enzimas (Ahmadi et al., 2020; Quintero-Hernández et al., 2013).

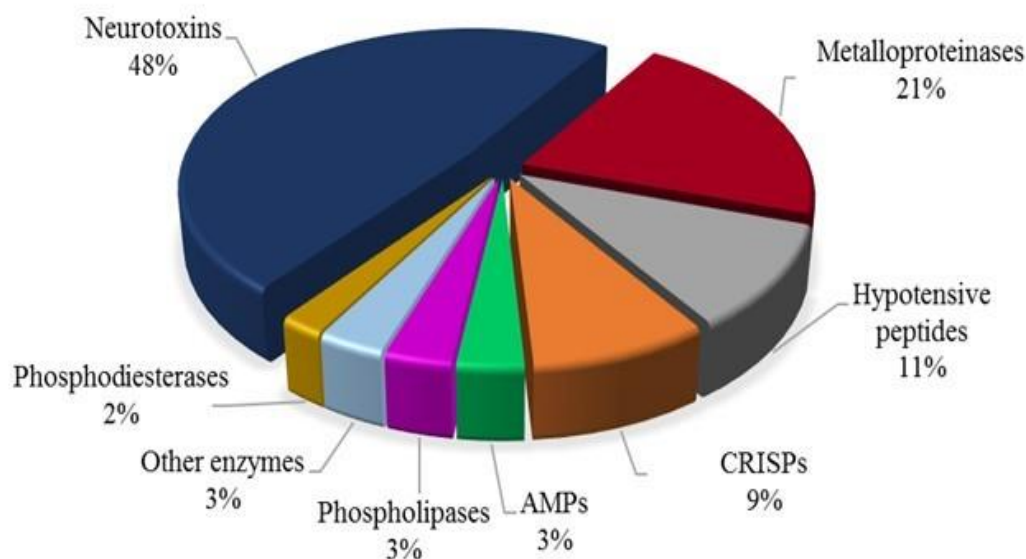


Figura 7. Proporción relativa de los compuestos presentes en el veneno de *Tityus serrulatus*

Se muestra la proporción relativa de las clases de proteínas del veneno de *T. serrulatus* en una fracción obtenida por FPLC con columna CMC-52 y determinada por proteómica de “shotgun”. Tomado de (Amorim et al., 2019).

La fracción tóxica está compuesta, principalmente, por péptidos y proteínas, como péptidos potenciadores de bradiquinina (BPP), neurotoxinas de canal de sodio (NavTx), neurotoxinas de canal de potasio (KvTx), neurotoxinas de canal de calcio (CavTx), entre otros; estas toxinas actúan bloqueando y/o modulando diferentes tipos de canales iónicos dependientes del voltaje, como: sodio, potasio, cloro y calcio, principalmente, en las terminales nerviosas del sistema nervioso autónomo (SNA) (De Araújo et al., 2017; Laraba-Djebari et al., 2015; Marchi et al., 2022).

2.4. Componentes del veneno de escorpión

Entre los componentes de los venenos de escorpión, se pueden mencionar:

- **Enzimas hialuronidasas:** se consideran enzimas ubicuas en los venenos de animales ponzoñosos como: serpientes, himenópteros y arácnidos; estas enzimas suelen denominarse “factores de propagación”, ya que son enzimas capaces de degradar el ácido hialurónico de la matriz extracelular de los tejidos conectivos, la piel, los cartílagos y el líquido sinovial de los mamíferos, lo que facilita la penetración de las toxinas desde el sitio de la picadura, hacia los tejidos de las presas/víctimas, favoreciendo la absorción del veneno y, por tanto, este llega más rápido al torrente sanguíneo, por esta razón, las hialuronidasas actúan como catalizador del envenenamiento sistémico (Abreu et al., 2020; De Oliveira-Mendes et al., 2019; Feng et al., 2008, Guerra-Duarte et al., 2019; Horta et al., 2014).
- **Enzimas fosfolipasas:** las enzimas de la familia fosfolipasas, específicamente la fosfolipasa, A₂ (PLA₂) alteran la membrana de los fosfolípidos en las células, causan la lisis de los hemocitos y esto lleva a que se desarrollen edemas, también, activan el ácido araquidónico que conduce la liberación de prostaglandinas y leucotrienos, generando inflamación. Por otra parte, la enzima PLA₂, estimula el eje hipotálamo-hipófisis-suprarrenal para producir hormona adrenocorticotrópica (ACTH), corticosteroides, vasopresina y proteínas de fase aguda, a su vez, provocan manifestaciones locales en el lugar de la picadura (De Oliveira et al., 2021; Simone & Van Der Meijden, 2021).
- **Enzimas metaloproteasas:** estas enzimas son un grupo muy diverso y se caracterizan según su sitio de unión al ión metálico, generalmente zinc; promueven la hidrólisis de las proteínas que se encuentran en la matriz celular y pueden afectar los procesos de coagulación (Simone

& Van Der Meijden, 2021). En el 2010, se aisló por primera vez una metaloproteasa del veneno de escorpión *Tityus serrulatus* (*T. serrulatus*), esta enzima se caracterizó por provocar hidrólisis de la proteína encargada de regular la escisión de las vesículas transportadoras y de esta manera afecta los transportes extracelulares, especialmente, dañando órganos secretores como el páncreas (Fletcher et al., 2010).

- **Inhibidores de proteasas:** estos componentes de los venenos de escorpiones son los encargados de degradar, selectivamente, las proteasas del organismo envenenado, de esta manera aumenta la eficiencia y eficacia del veneno inyectado en el cuerpo del organismo (Simone & Van Der Meijden, 2021).
- **Aminas biógenas:** dentro de estas se pueden mencionar la serotonina y la histamina.
 - **La serotonina:** se ha demostrado que esta amina está presente en el veneno muchas especies de escorpión y está asociada a contribuir en la presencia del dolor inmediato que se origina tras el envenenamiento y puede estar asociada con al desarrollo de vómitos (Abreu et al., 2020; Ahmadi et al., 2020; De Oliveira-Mendes et al., 2019; Tiwari et al., 2009).
 - **La histamina:** al igual que la serotonina, la histamina se ha encontrado en los venenos de escorpiones donde participa en los cambios fisiopatológicos del envenenamiento, como: dolor intenso, sensación de ardor, enrojecimiento, hinchazón y a veces edema (Basu, et al., 1990).
- **Los péptidos de defensa del huésped (HDP):** se ha encontrado que los artrópodos pueden presentar esta familia de péptidos relacionados con las defensas inmunitarias innatas de estos animales. La toxicidad que ejercen estos péptidos aún no está clara, pero en el veneno de *Pandinus imperator* (Scorpionidae), están asociados al desarrollo de hemólisis, lo que sugiere que, probablemente, exista un efecto en los mecanismos de coagulación de la sangre (Simone & Van Der Meijden, 2021).

2.5. Toxinas del veneno de escorpión

Dentro del impresionante cóctel de sustancias que existe en los venenos de escorpión, las toxinas son clasificadas según el canal iónico que afecten, el receptor específico de unión, la estructura tridimensional y la respuesta generada, ya sea activación o inactivación del receptor, estos son los

principales componentes estudiados por su importancia en el envenenamiento escorpiónico (Amorim et al., 2019; Quintero-Hernández et al., 2013).

- **Toxinas de canal de sodio (NavTxS):** Las toxinas que se unen a los canales de sodio (Nav), por lo general, tienen de 60 a 76 residuos de aminoácidos y son toxinas de cadena larga, presentan un andamio estructural muy conservado por una hélice α y tres láminas β enlazadas por cuatro puentes disulfuro, como se muestra en la **Figura 8**, además, presentan masas moleculares entre 7-8 kDa (Diochot, 2021; Quintero-Hernández et al., 2013; Rodríguez Solís et al., 2014; Simone & Van Der Meijden, 2021). Este grupo de toxinas son las más importantes desde el punto de vista clínico porque afectan los canales de sodio de mamíferos incluido el hombre. De acuerdo con su modo de acción estas toxinas se clasifican en 2 tipos (α -toxinas y β -toxinas):
 - **α -toxinas:** estas toxinas son conocidas como "toxinas excitatorias", ya que su mecanismo principal es unirse al sitio 3 del segmento S3-S4 del dominio IV y el sitio 3 del segmento S5-S6 en la parte extracelular del canal, (**Figura 9**), aumentar el pico de activación y ralentizar la cinética de inactivación de las corrientes de sodio (Diochot, 2021; Quintero-Hernández et al., 2013). A pesar de que todas las α -toxinas presentan el mismo mecanismo de acción y similar toxicidad, se pueden dividir en tres grupos (Gurevitz et al., 2015; Quintero-Hernández et al., 2013):
 1. α -toxinas clásicas anti-mamíferos: son muy activas en los canales de Na^+ de los mamíferos, pero poco activas en los insectos.
 2. α -toxinas anti-insectos: son muy activas en los canales de Na^+ de los insectos y no activas en mamíferos.
 3. α -toxinas like, toxinas similares a α o toxinas tipo α : son muy activas canales de Na^+ de insectos y presentan activación moderada en mamíferos.
 - **β -toxinas:** son llamadas " β -toxinas depresoras", ya que al unirse al sitio 4 del bucle extracelular de los segmentos S1-S2 y S3-S4 del dominio II y los segmentos S5-S6 del Nav (**Figura 9**), causan una hiperactivación reduciendo la amplitud máxima de corriente de sodio, generando un potencial de acción más negativo o hiperpolarizado; en este sentido, las células presentan una hiperexcitabilidad mucho más larga (Diochot, 2021; Gurevitz et al., 2015; Quintero-Hernández et al., 2013). Estas toxinas, también,

pueden subdividirse, dependiendo de si atacan insectos o mamíferos (Cid-Urbe et al., 2020).

1. β -toxinas anti-mamíferos: son toxinas que actúan únicamente en canales de Na^+ de los mamíferos.
2. β -toxinas anti-insectos excitador: causan parálisis espástica en los insectos al actuar en los canales de Na^+ de los nervios motores.
3. β -toxinas anti-insectos depresor: provocan parálisis flácida al suprimir el potencial de acción en los nervios motores presente en los insectos.
4. β -toxinas anti-mamíferos y anti-insectos: este tipo de toxinas hace un tipo de competencia de unión por los canales de Na^+ con las toxinas β de mamíferos y las β -toxinas anti-insectos.

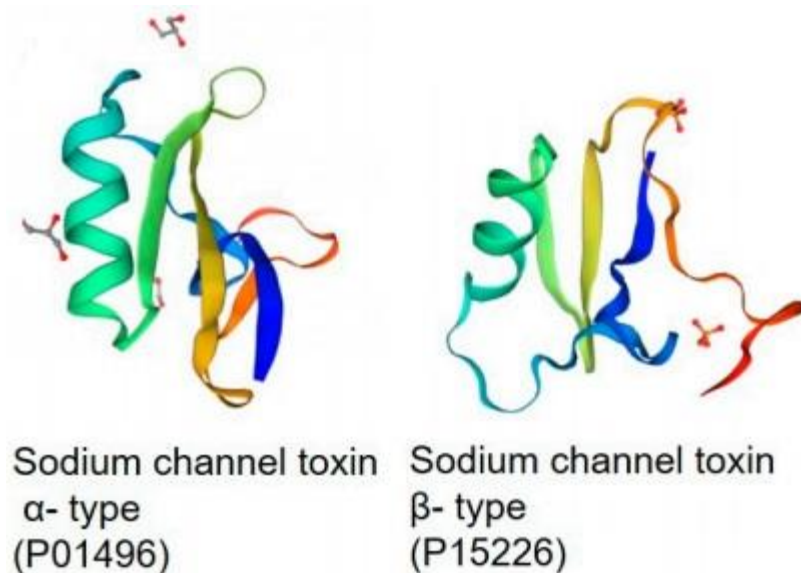


Figura 8. Modelos 3D de las toxinas de canal de sodio. Imagen en 3D creada con SWISSMODEL, muestra ejemplos de neurotoxinas de tipo α y tipo β . Tomado de (Mendes et al., 2023)

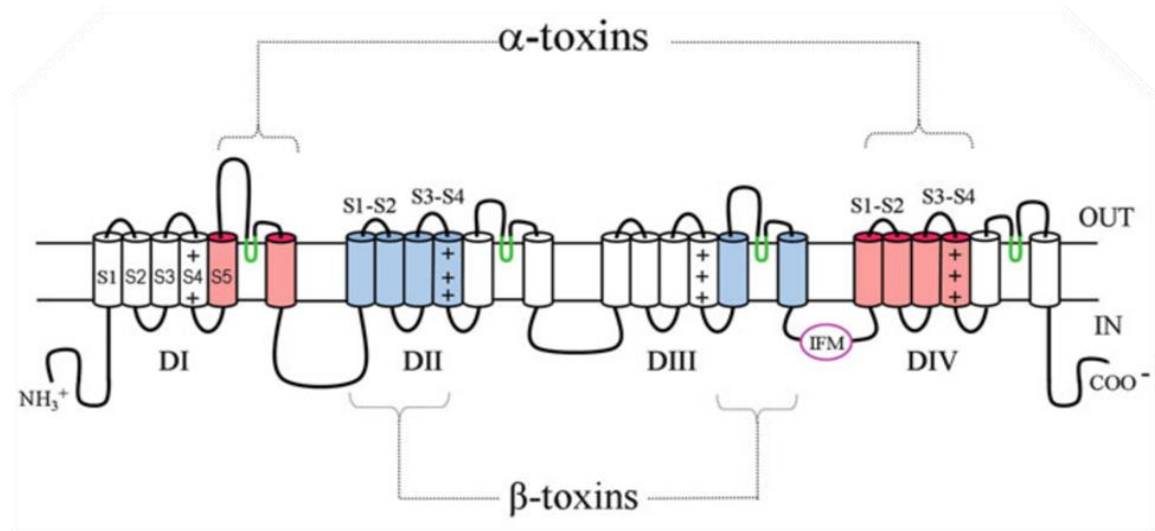


Figura 9. Sitio de unión de las toxinas de escorpión α y β en los canales Nav.

Se muestra los dominios DI al DIV que se ensamblan en la membrana alrededor del poro del canal (verde), además, los conectores S5 y S6 del dominio DI y los conectores S1 al S4 del dominio DIV forman el sitio receptor 3 donde actúan las toxinas α de escorpión (rojo). El sitio receptor 4 donde actúan las toxinas β de escorpión están formados por los conectores S1 al S4 en DII, S5 y S6 en DIII (azul). Tomado de (Gurevitz et al., 2015).

- **Toxinas de canal de potasio:** Los venenos de escorpiones son ricos en toxinas específicas para canales de K^+ (KvTx), las cuales presentan entre 23 a 84 residuos de aminoácidos estabilizados por tres o cuatro puentes disulfuros. Estas toxinas se han clasificado en cuatro familias, dependiendo de la secuencia primaria de aminoácido, enlaces disulfuro y del apareamiento de cisteínas (α -KTx, β -KTx, γ -KTx y κ -KTx) (Bartok et al., 2015; Oliveira et al., 2019; Quintero-Hernández et al., 2013), este tipo de toxinas bloquean los canales de K^+ , evitando la salida de estos iones desde el espacio intracelular, impidiendo, así, la terminación del potencial de acción, o sea, la repolarización de la célula (Diochot, 2021).
- **Toxinas de canal de cloruro:** las clorotoxinas (ClTx) constan de 36 aminoácidos y está compuesta por tres láminas- β cortas antiparalelas envueltas alrededor de una α -hélice estabilizada por cuatro puentes disulfuro, su acción principal es bloquear los canales de Cl^- epiteliales de conductancia pequeña (Cohen et al., 2018).

- **Toxinas de canal de calcio:** se ha encontrado en los venenos de escorpión toxinas llamadas calcinas que afectan la liberación de Ca^{2+} que se encuentra en el retículo endoplásmico y sarcoplásmico de los músculos cardíacos y esqueléticos, actúan a nivel de los receptores de rianodina (RyR), hasta la fecha se han reportado 3 tipos de receptores RyR1, RyR2 y RyR3. Se sabe que los receptores tipo RyR1 se expresan, principalmente, en músculo esquelético, en tanto que los receptores tipo RyR2 se encuentran prevalentemente en el músculo cardíaco, y los receptores tipo RyR3 se localizan en el músculo liso del cerebro y en las células epiteliales. Las calcinas se unen a los receptores RyR y actúan de forma agonista, liberando el Ca^{2+} intracelular de los retículos endoplásmico y sarcoplásmico (Mendes et al., 2023; Quintero-Hernández et al., 2013).

2.6. Manifestaciones clínicas de los envenenamientos escorpiónicos

Posterior a una picadura de escorpión, se generan efectos locales como dolor intenso y ardiente, edema y equimosis. Una vez que las toxinas de los venenos de escorpiones entran en circulación sistémica, se generan los efectos clínicos del envenenamiento por escorpión y estas van a depender muchas veces de la especie de escorpión, la letalidad y la cantidad de veneno inoculado. Estas toxinas ejercen su acción al bloquear y/o modular diferentes tipos de canales iónicos, como ya se mencionó anteriormente en la sección 2.5. y lo hacen de manera específica y, principalmente, en las terminales nerviosas del SNA (De Araújo et al., 2017). Las toxinas de canal de Na^+ y de canal de K^+ ejercen acción sobre los receptores de membranas de células de tejidos excitables de forma sinérgica afectando el potencial de membrana, provocando, así, una despolarización de manera sostenida y bloqueo de la repolarización de la célula (Diochot, 2021). Este proceso lleva a la liberación de neurotransmisores como acetilcolina (ACh), adrenalina y noradrenalina (NA) (De Araújo et al., 2017); de esta manera, se van a generar los signos y síntomas clínicos típicos en los pacientes que sufren este tipo de accidente.

Clínicamente, el envenenamiento escorpiónico se ha clasificado, como: leve, moderado y grave, dependiendo de los síntomas desarrollados y las pruebas de laboratorio que se alteren (Ministerio de Salud, 2016). Según la Guía para el manejo integral de la picadura de escorpión en la República de Panamá los signos y síntomas considerados para clasificar la gravedad del accidente escorpiónico son:

- Sin clínica sistémica: solo hay dolor local, la glucemia y amilasa están normales.
- Con clínica sistémica pueden ser:
 - **Leve:** existe un dolor local intenso, hiperemia o zona blanquecina, parestesias, edema local (poco frecuente).
 - **Moderado:** se observan los efectos anteriores (manifestaciones leves), además se producen náuseas, vómitos, dolor abdominal, cólicos, miosis o midriasis, nistagmus, rinorrea, palidez cutánea, sudoración generalizada, sialorrea, ataxia, somnolencia, taquipnea, broncorrea, agitación y estado de inquietud. En los exámenes de laboratorio, se puede encontrar alteraciones en glucosa, amilasa, enzimas como la creatina cinasa (CK, CK-MB) y electrolitos.
 - **Grave:** se producen las manifestaciones leves y moderadas, adicional a estos efectos, se presentan: arritmias cardíacas, hipertensión grave, miocardiopatías dilatadas, edema agudo de pulmón, pancreatitis aguda, convulsiones, epifora, úlcera peptídica sangrante, encefalopatías hipertensivas, disartria, apnea y coma. Como parte de este envenenamiento, se han reportado importantes cambios en las pruebas de laboratorio, sobre todo, en la parte de bioquímica se ha registrado un marcado aumento de la amilasa y la glucosa, también, se ha reportado aumento de enzimas cardíacas, creatinina y nitrógeno de urea, y desequilibrio electrolítico, mientras que en la parte hematológica: se ha reportado un importante aumento en los neutrófilos con el consecuente aumento de los leucocitos totales (Ministerio de Salud, 2016).

A continuación, se describen brevemente los signos y síntomas más característicos del envenenamiento escorpiónico:

- **Dolor**

Es el primer síntoma que se percibe tras la picadura de un escorpión. Esa sensación está mediada por las neuronas aferentes sensoriales primarias conocidas como receptores de la nocicepción; estos receptores detectan y transmiten la señal de dolor desde la periferia al sistema nervioso central. En el sistema de nocicepción, existen los canales de potencial receptor transitorio relacionados con la respuesta inductora de dolor, y debido a que en los venenos de escorpión existen toxinas que poseen alta afinidad por estos canales, la hiperexcitabilidad de las neuronas sensoriales primarias generadas por la afinidad puede

conducir a una sensación exagerada de dolor, como el dolor espontáneo y la hiperalgesia (Diochot, 2021; Simone & Van Der Meijden, 2021).

- **Efectos gastrointestinales**

Los envenenamientos escorpiónicos de clasificación moderados y graves pueden tener manifestaciones en el tracto gastrointestinal (TGI) y se presentan, principalmente, en niños. Estas manifestaciones del TGI que se presentan en los pacientes no forman parte secundaria después del envenenamiento, ya que propiamente las neurotoxinas presentes en los venenos provocan la liberación masiva de neurotransmisores en las fibras nerviosas colinérgicas vagales, las cuales pueden activar tejidos inervados, a través de los receptores muscarínicos (Bahloul, et al., 2005).

Las náuseas y vómitos que se generan se asocian como signo premonitorio de la gravedad del envenenamiento, dependiendo de su frecuencia e intensidad (Cáceres et al., 2022), cabe mencionar que, en el tracto gastrointestinal, existen diferentes tipos de receptores que participan en la generación de las náuseas y vómitos, entre ellos: receptores de dopamina tipo 2 (D2), receptores de serotonina tipo 3 (5-HT3), histamina tipo I (H1) y colinérgicos muscarínicos tipo I (M1). Sin embargo, este signo está relacionado con la activación autonómica que desencadena liberación de ACh (León-Álvarez, 2013; Trejo et al., 2012).

Por otra parte, la presencia de diarrea se ha asociado a un mal pronóstico y es un efecto más evidente en niños menores de 15 años que, en adultos, está relacionada con un efecto parasimpático sobre el músculo liso del intestino por estimulación vagal y que genera un aumento de la motilidad intestinal y reflejo peristáltico (Trejo et al., 2012).

Otro efecto muy marcado es la presencia de abundante salivación. La fuerte estimulación adrenérgica y colinérgica generada por los envenenamientos, genera una liberación excesiva de adrenalina y ACh, lo que guardaría relación con los cambios celulares en las glándulas salivales, principalmente, en la glándula parótida la cual es controlada por nervios simpáticos y parasimpáticos (Pucca et al., 2015; Rodríguez-Acosta & Finol, 2000). Se han reportado alteraciones ultraestructurales de las células acinares de las glándulas salivales que involucran alteraciones severas del retículo endoplásmico rugoso y un agotamiento de los gránulos secretores. Estos hallazgos celulares serían responsables de la intensa salivación tanto en

humanos como en animales envenenados (Trejo et al., 2012). Cabe mencionar que, dependiendo del receptor que sea estimulado en las glándulas salivales así será la consistencia de esta, la NA estimula la secreción salival a través de los receptores $\alpha 1$ y $\beta 1$ generando una saliva escasa de consistencia viscosa y muy rica en mucina, por el contrario, ACh estimula la secreción salival a través de los receptores M1 y M3 liberando una secreción de electrolitos y agua que lleva a la formación de una saliva de consistencia acuosa y rica en enzimas (Cáceres et al., 2022; Proctor & Carpenter, 2007).

La pancreatitis aguda es otra manifestación que suele aparecer tras las picaduras de escorpiones de diferentes especies y ha sido descrito en víctimas humanas, los signos y síntomas, que se correlaciona con el desarrollo de esta patología son las náuseas, vómitos y dolor abdominal (Albuquerque et al., 2018). Las toxinas presentes en los venenos de escorpión afectan directamente el páncreas exocrino al inducir desgranulación y generar vacuolas en los acinos. Por otro lado, la liberación de ACh activa los receptores muscarínicos M1 y M3 e induce la conversión del zimógeno en una gran cantidad de enzimas, que autodigieren y necrosan los acinos pancreáticos, también, se puede encontrar dilatación de los conductos pancreáticos; pruebas de laboratorio como lipasa y amilasa suelen encontrarse elevadas, reflejando acción del veneno sobre el páncreas exocrino; la glucosa sérica elevada en las primeras horas después del accidente, se debe a una reacción adrenérgica por liberación de adrenalina y NA (D'Suze et al., 2011).

Así mismo, se ha reportado que en los casos graves de envenenamiento, se puede generar daños severos en el páncreas endocrino por acción directa e indirecta de la descarga de adrenalina a nivel simpático, además de su liberación a partir de las glándulas suprarrenales, actuando así sobre los receptores $\alpha 2$ presentes en las células β del páncreas, evidenciando hiperplasia de los islotes de Langerhans, pérdida de microvellosidades, degeneración de organelos citoplásmicos, modificaciones en la membrana apical, necrosis, generando inhibición de la secreción de insulina e hiperglicemia. Si la hiperglicemia persiste 24 horas después del accidente, se debe sospechar que las toxinas de veneno de escorpión han alterado la fisiología del páncreas endocrino (Cáceres et al., 2022; D'Suze et al., 2011).

- **Efectos neurotóxicos**

○ **Afecciones en el sistema nervioso autónomo**

Las toxinas de los venenos de escorpiones poseen alta afinidad por los canales iónicos que se encuentran en las membranas celulares amielínicas encargadas de conducir el impulso nervioso (Nencioni et al., 2018), provocando la despolarización intensa y persistente de los nervios autonómicos, con la consiguiente liberación masiva y desorganizada de neurotransmisores autonómicos tipo ACh (Bravo Suárez et al., 2017).

Una vez que se genera el bloqueo de los canales de sodio, se genera una liberación exacerbada de catecolaminas y ACh que provocan la denominada tormenta autonómica que se caracteriza por presentar una estimulación prolongada de origen simpático y una transitoria de origen parasimpático (Avilés-Marínez et al., 2016; De Roodt, 2015). Este desorden autonómico conlleva a un compromiso sistémico que conduce a las diferentes alteraciones en el organismo, por esta razón los signos y síntomas de las personas con envenenamiento escorpiónico son mixtos y esto genera una complicación a la hora de aplicar un tratamiento terapéutico, también, pueden llevar a la muerte de la persona (De Roodt, 2015). Los signos y síntomas como vómitos, sudoración profusa, extremidades frías, hipotensión, bradicardia y, en algunos casos, priapismo son indicativos de la actividad parasimpática; por el contrario, la inquietud, taquicardia, hipertensión, insuficiencia cardíaca y edema pulmonar son efectos característicos de la estimulación simpática (Tiwari et al., 2020).

○ **Afecciones en el sistema nervioso central**

Inicialmente, se decía que los venenos de escorpiones no tenían acción tóxica a nivel del sistema nervioso central (SNC), gracias a la protección que brinda la barrera hematoencefálica (BHE) (Nencioni et al., 2009). Se sabe que la BHE cuenta con un sistema de difusión que restringe el acceso a numerosos compuestos, incluyendo agentes neurotóxicos que pueden causar efectos deletéreos en el SNC (Escobar & Gómez González, 2008). Sin embargo, autores creen que cuando las personas son muy jóvenes como los niños pequeños, la BHE no está completamente formada y es por esta razón que los efectos centrales observados en los envenenamientos escorpiónicos serían un resultado directo por afección de neurotoxinas en el SNC y no por causa del mismo proceso de envenenamiento (Naranjo et al.,

2022; Nencioni et al., 2018). Por otra parte, en las personas adultas al tener una BHE formada resulta difícil creer que las toxinas presentes en el veneno la crucen, pero existen sustancias como glutamato, aspartato, taurina, ATP, endotelina-1, óxido nítrico (NO), TNF- α , IL-1 β , bradicinina, 5HT, histamina, trombina, sustancia P, ácido quinolínico, factor activador de las plaquetas y los radicales libres pueden modificar o destruir la integridad anatómica y funcional de la BHE, creando así un aumento de la permeabilidad de la membrana (Escobar & Gómez González, 2008). Signos como convulsiones generalizadas o localizadas, coma, miosis, midriasis, anisocoria, nistagmo, estrabismo y movimientos oculares erráticos muestran que el envenenamiento por escorpión es de forma grave (Bahloul et al., 2005).

- **Efectos cardíacos:** La disfunción cardíaca es uno de los efectos más graves que se desarrollan tras un envenenamiento por escorpión. En los venenos de escorpión, se encuentran toxinas que pueden dañar el corazón de varias formas, entre ellas está la presencia de cardiotoxinas que causan daño de forma directa en el corazón por reducción de Na-K-ATPasa en los miocitos, generando así una miocarditis tóxica (Fereidooni et al., 2023; Maheshwari & Tanwar, 2012).

La sobreestimulación por catecolaminas, especialmente, adrenalina generadas por la tormenta autonómica simpática actúan sobre los receptores α -adrenérgicos, provocando un aumento de la resistencia vascular periférica que conduce a taquicardia o taquiarritmia y al mismo tiempo, actúan sobre los receptores β -adrenérgicos incrementando la contractilidad miocárdica y estimulando la liberación de renina desde los riñones, en los receptores β -adrenérgicos en el nodo sinoauricular, generando (NSA); se genera un aumento de la frecuencia cardíaca, en el nodo auriculoventricular (NAV), las fibras de Purkinje generan aumento del automatismo, de velocidad de conducción y en los ventrículos causan aumento de la contractilidad (Lam de Calvo, 2018), esto produce estimulación cardíaca, vasoconstricción grave que provoca aumento de la poscarga y esto implica una mayor resistencia al vaciamiento ventricular y por lo tanto, se reduce la eficiencia de la contracción ventricular (Fereidooni et al., 2023; Guadalajara Boo, 2006) el aumento de las necesidades de oxígeno del miocardio, cambios en el metabolismo y la perfusión del miocardio, pueden ser la causa del infarto agudo de miocardio (Das et al., 2021; Reddy Rakesh et al., 2017).

Cabe mencionar que, la afección a nivel de las miofibrillas cardíacas reduce el número de unidades contráctiles y esto resulta en la disminución de la capacidad de bombeo del corazón, generando bradicardia y miocarditis (Das et al., 2021). La taquicardia que se presenta en los pacientes intoxicados con veneno de escorpión se correlaciona con la hipertensión y puede inducir riesgo cardiovascular (Das et al., 2021; Reddy Rakesh et al., 2017). Por otra parte, la isquemia que se puede presentar resulta ser causa de la vasoconstricción y el aumento de la contractilidad del miocardio y el aumento de la demanda de oxígeno (Fereidooni et al., 2023). Los pacientes con envenenamiento escorpiónico grave pueden tener un aumento de la presión arterial, este aumento está relacionado con la estimulación adrenérgica al incrementar la liberación de catecolaminas por el sistema nervioso simpático, glándulas adrenales y los terminales nerviosos postganglionares (Trejo et al., 2012). La hipertensión arterial se caracteriza por tener inicio precoz, de corta duración, pudiendo generar una encefalopatía hipertensiva, la cual puede ser la complicación cardiovascular más frecuente en niños y manifestarse clínicamente como convulsiones o coma (Isbister & Bawaskar, 2014; Ramírez Sánchez et al., 2010).

Se ha observado en pacientes, con envenenamiento escorpiónico moderado y grave, una correlación directa con el aumento de marcadores cardíacos, como lo son: la troponina I, la enzima lactato deshidrogenasa (LDH), la creatina kinasa (CK) y creatina kinasa MB (CK-MB); esta última es una isoenzima de origen cardíaco y tiene una mayor ventaja sobre la CK, ya que tiene mayor especificidad para el corazón, por esta razón ha sido correlacionada con síndrome coronario agudo y se usa como marcador temprano de daño cardíaco (D'Suze et al., 2011; Izquierdo & Rodríguez Buitrago, 2012; Murthy, 2000).

- **Efecto pulmonar:** El edema agudo de pulmón (EAP) es la complicación respiratoria más grave que se presenta en pacientes con picadura de escorpión (Bahloul et al., 2013). El mecanismo por el cual el veneno de escorpión causa edema pulmonar no se ha aclarado completamente, sin embargo, se asocia a factores cardíacos y no cardíacos (Izquierdo & Rodríguez Buitrago, 2012). El EAP de origen cardiogénico se produce por un aumento en la presión capilar pulmonar por encima de la presión oncótica. La vasoconstricción sistémica generada por la liberación de adrenalina aumenta la resistencia vascular periférica; por tanto, aumenta la poscarga ventricular izquierda, por consiguiente, el vaciamiento del ventrículo izquierdo es restringido, aumentando así la presión en la aurícula izquierda; también,

aumenta la presión en los capilares pulmonares, lo que provoca que el espacio alveolar se llene de plasma y cause edema de pulmón, aumentando la dificultad respiratoria (Cáceres et al., 2022; Izquierdo & Rodríguez Buitrago, 2012).

El edema pulmonar de origen no cardiogénico implica un daño directo a la barrera alveolocapilar impidiendo la eliminación de agua en el espacio aéreo alveolar al tener una alteración de la bomba Na-K ATPasa causada por el veneno, de esta manera se genera el Síndrome de Dificultad Respiratoria Aguda (SDRA); esto ha sido evaluado en modelos experimentales (Izquierdo & Rodríguez Buitrago, 2012). El aumento de la permeabilidad alveolar permite la salida del líquido desde la sangre a los alvéolos, por tanto, se acumula líquido en los pulmones (Cáceres et al., 2022). Además, el edema pulmonar de origen no cardiogénico está asociado a sustancias vasoactivas, como: prostaglandinas, bradicinina, histamina y a la activación de neuropéptidos, como la sustancia P; estas sustancias actúan liberando mediadores inflamatorios que generan permeabilidad vascular llevando al desarrollo de EAP (Amaya-Rodríguez et al., 2022).

Por otra parte, la afección que se genera en el páncreas por las toxinas del veneno de escorpión se ha vinculado con el desarrollo de EAP. Cuando se dañan las células del páncreas se genera una liberación de enzimas digestivas (D'Suze et al., 2011), citoquinas y sustancias proinflamatorias, que generan aumento de la permeabilidad de la barrera alveolocapilar (Cáceres et al., 2022; De Roodt, 2015). Este daño pulmonar se ha evidenciado en estudios histopatológicos, donde se observa congestión de alvéolos capilares y agrandamiento de los espacios intersticiales con infiltración de neutrófilos y neumocitos tipo 1 y 2 en estado degenerativo (Amaya-Rodríguez et al., 2022; Cáceres et al., 2022).

- **Efectos renales:** las toxinas presentes en los venenos de escorpiones se pueden unir directamente en las células renales, induciendo la lesión renal aguda (LRA) en pacientes que sufren accidentes graves con escorpiones, elevando los niveles séricos de urea y ácido úrico y una disminución en la excreción de creatinina; además, pueden desarrollar una congestión peritubular, disminución del volumen urinario, vasculitis, mesangiólisis, glomerulonefritis, nefritis, nefrosis intersticial, necrosis cortical y necrosis tubular, además de hipoxia vascular e infarto renal (Alves et al., 2005; Nunan et al., 2003).

En la clínica, se ha reportado que los pacientes pueden desarrollar una LRA por diversos factores, entre ellos está la redistribución de manera rápida del veneno desde la circulación sistémica a los riñones y la lenta excreción de este por la orina. Por otra parte, los efectos directos que tienen las toxinas de escorpiones sobre el tejido renal, debido a sustancias de alto peso molecular, como la enzima hialuronidasa o toxinas específicas para canales de potasio, que, al despolarizar las células del músculo liso de la arteria en el tejido renal, causan una vasoconstricción arteriolar aferente, llevando al desarrollo de LRA (Boju et al., 2016; De Oliveira et al., 2021).

- **Efecto sobre el sistema inmunológico:** Las picaduras de los escorpiones producen lesión tisular que puede desencadenar una respuesta inflamatoria sistémica con la consecuente liberación de citoquinas y catecolaminas, bradiquininas, prostaglandinas y corticoesteroides (Alves et al., 2005; Magalhães et al., 1999). Según, D'Suze y colaboradores, los envenenamientos escorpiónicos son uno de los procesos no infecciosos que induce la liberación masiva de citoquinas proinflamatorias, principalmente IL1- α y TNF- α que son hábiles activadores de quimiotaxis en neutrófilos; y la IL6 que promueve la síntesis de proteínas de fase aguda en el hígado, lo que puede llevar a una respuesta inflamatoria generalizada y causar una morbilidad en pacientes críticos (D'Suze et al., 2011).

Cuando los niveles de IL-1 β , IL-6 y TNF- α son elevados inducen la producción de otros factores inflamatorios, como: prostaglandinas (PGE2), leucotrienos (LTB4), factor activador de plaquetas (PAF), proteasas y radicales libres (Fukuhara et al., 2003). A su vez, PGE2 y LTB4 participan en la permeabilidad vascular y la entrada de leucocitos al espacio broncoalveolar, desgranulación de células fagocíticas e inducción de broncoconstricción (D'Suze et al., 2011; Laraba-Djebari et al., 2015).

El veneno de escorpión puede estimular los ejes inmunes neuroendocrinos por su capacidad para movilizar leucocitos y liberar mediadores inflamatorios, expresar moléculas de adhesión, liberar factores activadores de plaquetas, citoquinas e inmunoglobulinas (Laraba-Djebari et al., 2015; Magalhães et al., 1999). En múltiples casos de envenenamiento escorpiónico, se ha reportado leucocitosis a expensas de los neutrófilos (Cáceres et al., 2022).

Experimentalmente, se ha observado que la activación de los procesos inflamatorios se observa en casi todos los órganos, sin embargo, el efecto más potenciado se ve en los pulmones, allí se observa una exacerbada agregación de neutrófilos que colapsa el espacio alveolar y el epitelio, dejando como resultado abundantes depósitos de fibrina en los alvéolos (Amaya-Rodríguez et al., 2022; D'Suze et al., 2011).

Estudios histológicos han demostrado que en lugar de la inoculación del veneno puede haber una degradación de la matriz extracelular (MEC), ya sea por enzimas proteolíticas presentes en el veneno o por la alta presencia de neutrófilos en el lugar; estos neutrófilos son capaces de secretar proteasas que generan productos de degradación de la MEC, y juegan un papel muy importante en la regulación del número, localización y el estado de activación de los leucocitos al aumentar la quimiotaxis, adhesión celular y generar una respuesta inflamatoria generalizada en otros lugares del organismo (D'Suze et al., 2011).

- **Efectos musculares:** en el año 2016, Villa Manzano y colaboradores, reportan el desarrollo de parálisis flácida aguda en una infanta de 1 año tras la picadura de un escorpión del género *Centruroides* en México; la paciente presentaba crisis convulsiva, Glasgow de 3, aplicaron antiveneno y después de 3 horas persistió la parálisis flácida sin respuesta a estímulo doloroso, sin embargo, en esta misma publicación, los autores refieren que solo existía un reporte médico de parálisis flácida causada por escorpionismo y fue causada por un escorpión del género *Parabuthus*, en Sudáfrica.

En Brasil, en la parte occidental de la Amazonía se ha reportado la presencia de descargas eléctricas asociadas a mioclonías, ataxia, disartria, dismetría y fasciculaciones musculares, en casos de envenenamiento por picadura de *Tityus obscurus*. Estas alteraciones han sido asociadas con una disfunción cerebelosa y no relacionadas con la acción de las neurotoxinas en forma directa en la neurotransmisión (Oliveira Collaço et al., 2019). Sin embargo, el veneno de escorpión puede provocar parálisis por la descarga masiva de neurotransmisores en los sistemas nerviosos somáticos sensitivos y parasimpáticos (Villa Manzano et al., 2016).

Se considera “Síndrome de parálisis flácida” a la debilidad muscular de inicio agudo o hiperagudo, de progresión rápida, que se caracteriza por presentar una disminución o pérdida del tono muscular llamado también flacidez que comienza por las extremidades y puede

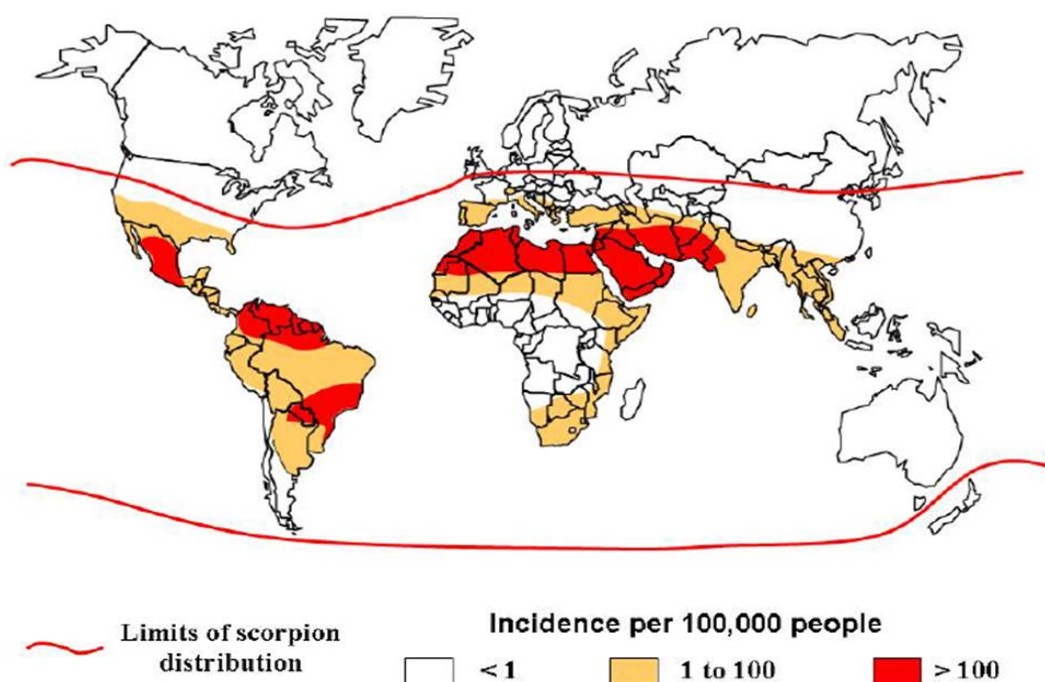
comprometer músculos del tórax y/o partes del cuerpo que dependan del tronco encefálico en menos de 5 días (González Rabelino, 2006; Vega Benavente et al., 2020).

Experimentalmente, se ha documentado que, el veneno de *Tityus (Atreus) sp.* anteriormente llamado *Tityus (Atreus) asthenes* de Panamá, administrado en ratones causa parálisis de las extremidades delanteras y traseras, y, además, induce un aumento de la enzima CK en suero (Morán González, 2018). Así mismo, también se han realizado estudios para evaluar las toxinas de escorpión responsables de daño muscular en roedores (Díaz-García, et al., 2015; Escobar et al., 2002, 2003), ya que los principales estudios se han enfocado en entender la clínica percé y no al estudio de las proteínas responsables de estos efectos (Escobar et al., 2002). Para ello, estos investigadores utilizaron la medición de la enzima CK como marcador de toxicidad en el músculo gastrocnemio de ratones, ya que esta enzima es fundamental para el transporte y almacenamiento de energía en las células musculares y se encuentra en su isoenzima MM en un 95% en el músculo esquelético, 80 % en el músculo cardíaco y de la forma MB en un 20%, mientras que la forma BB se encuentra en menor proporción en el cerebro, además su medición es muy utilizada ante la sospecha de un daño o enfermedad muscular (Saad et al., 2022).

2.7. Escorpionismo

El envenenamiento escorpiónico o escorpionismo es definido como el cuadro clínico resultante después de la picadura e inyección del veneno de escorpión al ser humano (Parma & Palladino, 2010; Rostagno & Saenz, 2019). A nivel mundial, la epidemiología del envenenamiento por escorpión es poco conocida y se debe, principalmente, al subregistro de los casos reportados y a la falta de estudios sobre este tema (De Araújo et al., 2017). Así mismo, se sabe que las picaduras de escorpión representan un problema de salud pública y una emergencia médica toxicológica que afectan a la población de países tropicales y subtropicales de todos los continentes, con excepción de los polos y altas cumbres nevadas como se muestra en la **Figura 10** (Bordón et al., 2018; Chippaux & Goyffon, 2008; Gómez & Otero, 2007; Ramirez et al., 2011; Saldarriaga Córdoba & Otero Patiño, 2000); además, causan, aproximadamente, 1,5 millones de envenenamientos y provocan entre 2000 y 3000 muertes anualmente en todo el mundo (Ahmadi et al., 2020).

En 2007, la Organización Mundial de la Salud (OMS) estableció de forma oficial que el envenenamiento causado por la picadura de un escorpión es un problema de salud pública desatendido en muchas partes del mundo, especialmente, en aquellos países en vías de desarrollo (Horta et al., 2014).



Zonas de escorpionismo del mundo

Figura 10. Zonas de escorpionismo a nivel mundial.

Según Ramires y colaboradores, en el 2011, los estudios más recientes identificaban siete zonas del mundo como en riesgo, entre ellas están: África norte del Sahara, África saheliana, Sudáfrica, Cercano y Medio Oriente, sur de la India, México y sur de América Latina, Este de los Andes. Tomado de (Ramires et al., 2011).

En América Latina, Panamá, es uno de los países más afectados por el escorpionismo, ocupando el segundo lugar en tasa de incidencia con 61 casos por cada 100000 habitantes, (Arjona C., 2022). En los últimos años, en nuestro país se registró un incremento de picaduras de escorpión, siendo así que, durante el periodo de 2000-2016, se observó la tendencia al incremento de casos, con rangos de 385 casos en el año 2000 a 4399 casos en el año 2016, donde los niños menores de 4 años y los adultos mayores son, especialmente, el grupo más sensible al envenenamiento por escorpión (Arjona C., 2022).

Las altas tasas de morbilidad y mortalidad por accidentes escorpiónicos en los niños, generalmente, se han asociado con la vulnerabilidad del sistema inmunitario, la relación entre la dosis del veneno y el peso corporal del paciente, ya que contribuyen a una rápida progresión de la fase leve a la grave en los niños pequeños. Otros factores como la especie del escorpión, el sexo del paciente, el sitio de la picadura y el periodo transcurrido entre el momento de la picadura, los primeros auxilios médicos, la ubicación geográfica, la estructura socioeconómica y las condiciones meteorológicas juegan un papel importante en el desarrollo de la gravedad del envenenamiento (De Albuquerque et al., 2013; Mendoza-Tobar et al., 2021; Ozkan et al., 2007). Todas estas razones sitúan al envenenamiento por escorpión como el segundo más importante en envenenamientos de animales en todo el mundo según la OMS (Izquierdo & Rodríguez Buitrago, 2012).

2.8. Tratamiento del envenenamiento escorpiónico

Dentro de los tratamientos que se le brindan a un paciente que llegue a cuarto de urgencia por sospecha o caso confirmado de picadura de escorpión, se debe hacer la valoración inicial que es el ABCDE (verificación de vía aérea, respiración, circulación, déficit neurológico, exposición), valorar el estado de alerta del paciente, confirmar cuál es lugar de la picadura si está cerca de vaso sanguíneo o cerca de área con abundante capa de grasa; esto es muy importante por la absorción del veneno, evaluar el estado general del paciente, ordenar un ECG y una radiografía de tórax, además, ordenar de inmediato exámenes de laboratorio, como el hemograma y química sanguínea (Ministerio de Salud, 2016).

El único tratamiento específico y científicamente aprobado para el envenenamiento escorpiónico es el antiveneno antiescorpiónico. Estudios clínicos y experimentales demuestran que la rápida aplicación intravenosa de los antivenenos específicos, puede conducir a una completa (100%) y duradera neutralización de las toxinas, así como, a su redistribución parcial desde los compartimentos periféricos al vascular (Cáceres et al., 2022; Mazzei de Dávila et al., 2011). Para lograr este efecto es recomendable que el antiveneno sea administrado lo más pronto posible (De Roodt, 2015; Mazzei de Dávila et al., 2011).

En Panamá, se utiliza el antiveneno que es producido por la Facultad de Farmacia de la Universidad Central de Venezuela y que se obtiene a partir de la inoculación del veneno del escorpión *Tityus discrepans* en caballos, estos anticuerpos generados contra el veneno producidos por el caballo son capaces de neutralizar el veneno de otras especies de escorpiones del género *Tityus*. Este antiveneno que se comercializa como suero antiescorpiónico, no produce reacciones anafilácticas, ya que se le extrae la fracción responsable de la reacción anafiláctica (IgG), mediante la hidrólisis de proteínas, mientras que la molécula F(ab')₂, con las propiedades protectoras y neutralizantes del veneno, se mantiene intacta (Mazzei de Dávila et al., 2011).

Sintomatológicamente, se pueden administrar diferentes fármacos para ayudar en el tratamiento en caso de no contar con la disponibilidad del suero antiescorpiónico. Entre ellos están: el uso de analgésicos (AINES, lidocaína, perilesional), antihistamínicos (famotidina), antieméticos (metoclopramida, dimenhidrato), anticonvulsivantes (benzodiacepina: midazolam, diazepam), hidratantes [SSF + Dextrosa 5% (cuando hay posibilidad de hipoglicemia asociada a la situación crítica) + KCl], hipertensivos (nifedipina, hidralazina, nitroprusiato de sodio, propanolol, captopril, labetalol, nitroglicerina), antiarrítmicos (amiodarona, procainamida, adenosina), diuréticos (furosemida) (Ministerio de Salud, 2016).

CAPÍTULO TERCERO

METODOLOGÍA

3. Metodología

3.1. Tipo y diseño general del estudio

Este estudio es de tipo experimental, dentro del área básica y exploratoria, en la cual se utilizó la técnica del tamizado hipocrático, así como, pruebas hematológicas y químicas, que contribuyen a conocer cómo se comportan los venenos de escorpiones y cómo se correlacionan los efectos tóxicos observados con la fisiopatología que ocurre en los pacientes que sufren un envenenamiento escorpiónico ocasionado por los escorpiones *Tityus (Atreus) sp.*, *T. championi*, *T. festae*, *C. bicolor* y *C. limbatus*.

3.2. Tamaño de muestra

Para el cálculo de los diferentes tamaños de muestras de ratones, se tomó en cuenta los diferentes experimentos y pruebas que se llevaron a cabo. Los tamaños muestrales se calcularon con el software g*Power 3.1. En la **Tabla 2**, se muestra la cantidad exacta de ratones utilizados durante el desarrollo de esta investigación.

Tabla 2. Cantidad de animales de experimentación utilizados en los diferentes experimentos

Experimento	Número de ratones
Tamizado Hipocrático	180
Hallazgos de laboratorio	720
Total	900

3.3. Animales de experimentación

Se realizaron ensayos *in vivo* utilizando ratones hembra y machos de la cepa CD-1 de 18-20 g de peso como se muestra en la **Figura 11a**, producidos por el Centro de Investigación e Información de Medicamentos y Tóxicos (CIIMET), en un área ubicada en las instalaciones del Bioterio de la Universidad de Panamá, el cual cuenta con personal capacitado para el cuidado y alojamiento de los animales. Para esta investigación, se utilizó la cantidad mínima necesaria, siguiendo las normas de la Declaración Universal para el Bienestar de los Animales de Experimentación y la Guía para el Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio publicado por el National Health Institute y apegados

a los aspectos éticos en el uso de animales de experimentación, como lo es el uso de las 3Rs (National Research Council, 2011).

Cabe mencionar que, los ratones estuvieron en instalaciones con aire acondicionado que oscilaba entre 22 a 23°C, humedad relativa entre el 60% y 70%, el control de iluminación era de 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad y fue controlado por el personal del bioterio, antes y durante los ensayos estos fueron mantenidos en cajas de polipropileno, las cuales se cubrieron con una reja de metal, en la cual tenía lugar para colocarles un bebedero para tomar agua al gusto y también alimento, ya que no era necesario el ayuno en los animales para la realización de todos los ensayos como se observa en la **Figura 11b**.

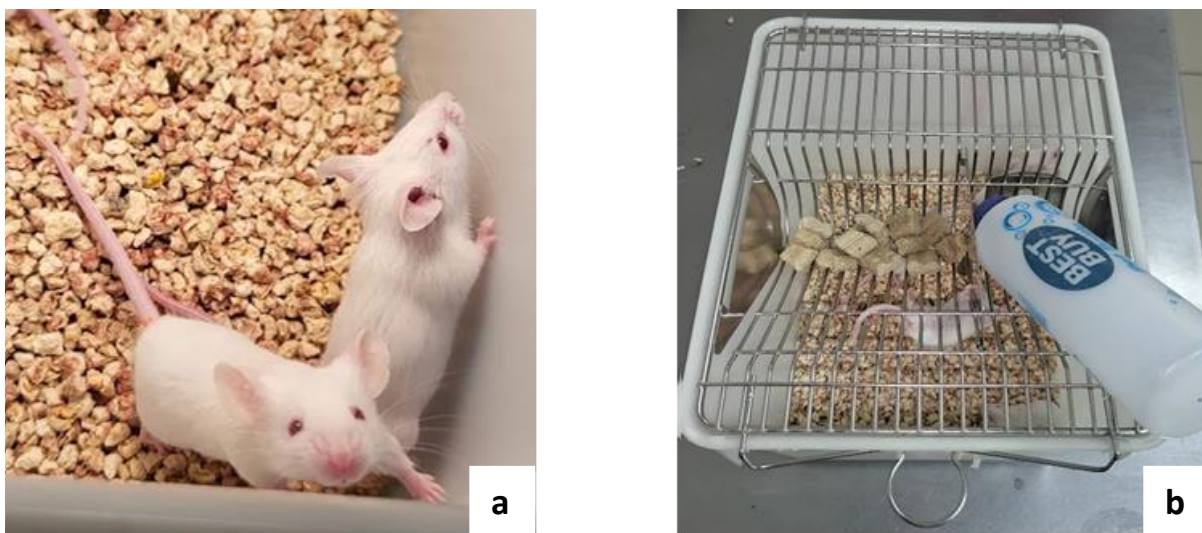


Figura 11. Ratones de la cepa CD-1.

A. Ratones albinos de 18 a 20 gr de peso. B. Caja de polipropileno con reja para mantener a los animales.

3.4. Escorpiones y veneno

El veneno utilizado fue proporcionado por el CIIMET (**Figura 12**), se utilizó 17.64 mg de veneno de *Tityus (Atreus) sp.* de Palmas Bellas, Colón; 12.18 mg de *T. championi* de Río Sereno, Chiriquí; 20.58 mg de *T. festae* de Chucantí, Darién; 14.28 mg de *C. bicolor* de Potrerillos, Chiriquí; 23.94 mg de *C. limbatus* de Chiriquí Grande, Bocas del Toro, los cuales estaban almacenados a -40°C.

Para preparar las diferentes concentraciones de dosis de veneno, el día del ensayo los venenos liofilizados fueron reconstituidos con solución salina estéril (NaCl 0.9%) y se determinó la concentración de proteínas, utilizando un espectrofotómetro modelo BioSpec-nano de la marca Shimadzu a una longitud de onda de 280 nm (**Figura 13**), para calcular la concentración de veneno a la que debíamos llegar, se utilizó la siguiente fórmula:

$$\text{Concentración (mg/dL)} = \frac{\text{Peso } \bar{x} \text{ (Kg)} \times \text{Dosis (mg/Kg)}}{\text{Volumen a administrar (mL)}}$$

En donde:

- Peso $\bar{x}$ (Kg): corresponde al peso promedio de los ratones (18 – 20 g).
- Dosis (mg/Kg): corresponde a las dosis letales 50, a la cual debíamos preparar el veneno, en la **Tabla 3**, se presentan las DL₅₀ utilizadas para realizar los envenenamientos experimentales (Salazar et al., 2018, 2023).
- Volumen por administrar (mL): es el volumen que se inyecta por vía intravenosa y que corresponde a 0.2 mL.

Tabla 3. Dosis Letales 50 de los venenos de escorpiones

Veneno de escorpión	Dosis Letal 50 (DL ₅₀)
<i>Tityus (Atreus) sp.</i> (Pocock, 1893)	4.2 mg/Kg
<i>T. championi</i> Pocock, 1898	2.9 mg/Kg
<i>T. festae</i> Borelli, 1855	4.9 mg/Kg
<i>C. bicolor</i> (Pocock, 1898)	3.4 mg/Kg
<i>C. limbatus</i> (Pocock, 1898).	5.7 mg/Kg
Información tomada de: (Salazar et al., 2018, 2023)	



Figura 12. Veneno de escorpión liofilizado



Figura 13. Espectrofotómetro modelo BioSpec-nano de la marca Shimadzu.

3.5. Aspectos éticos

Este proyecto con código CE-PT-340-400-02-22-01 fue aprobado por el Comité de Ética de la Investigación y el Bienestar de los Animales de la Universidad de Panamá (CEIBAUP) mediante la nota CEIBA-UP-033-2022 del 6 de septiembre del 2022, ver **Anexo 1**, lo que indica que la investigación cumple con los requisitos y procedimientos éticos en la utilización de animales de experimentación de acuerdo con los Principios Éticos establecidos por la Guía para el cuidado y uso de animales de laboratorio (National Research Council, 2011).

3.6. Tamizado Hipocrático para evaluar el envenenamiento escorpiónico

La técnica del Tamizado Hipocrático es un método que se emplea para evaluar la actividad biológica de una sustancia, en este caso el veneno de escorpión, ya que utiliza una amplia batería de ensayos mediante los cuales se evalúan efectos en diferentes sistemas, lo que nos permite tener un primer perfil toxicológico de una sustancia con actividad desconocida, en este sentido, la ausencia de un síntoma es tan importante como la presencia de él (Saravia Gómez, 2004). Esta técnica se lleva a cabo colocando a los animales a ensayar dentro de un corral. Es importante mencionar que esta técnica es una de las más utilizadas para realizar las evaluaciones toxicológicas,

ya que además nos permite observar el porcentaje de supervivencia de los animales tratados en los ensayos.

Los parámetros que se evaluaron en el ensayo se describen en la **Tabla 4**; en el **Anexo 2**, se muestra el instrumento que se utilizó para registrar cada signo observado en cada tiempo de medición. Los datos fueron tabulados en función de la frecuencia de manifestación de cada signo en el total de los ratones que se utilizaron en cada grupo de ensayo al culminar las evaluaciones (Gómez, 2013). Para realizar el envenenamiento experimental, se administró un volumen de 0.2 mL de veneno a 3 grupos de 5 ratones por vía intravenosa (i.v.) (**Figura 14**), utilizando 0.5 DL₅₀, 1 DL₅₀ y 1.5 DL₅₀ de cada veneno a ensayar. En cada grupo, se incluyó un ratón como control, al cual se le administró vía i.v. NaCl 0.9%. Los signos que se presentaron fueron observados y anotados al inicio del ensayo (tiempo=0, los cuales sirvieron como control del mismo ratón), y a los 5, 15, 30, 60, 180 y 1440 minutos (Barona et al., 2004). Cabe aclarar que para este ensayo no se anestesiaron los animales, ya que la finalidad de dicha técnica era identificar los efectos tóxicos que generaban los venenos de las diferentes especies de escorpiones desde su inoculación hasta el tiempo determinado y la implementación de un anestésico interfiere con las manifestación y observaciones de los signos de envenenamiento que se estaban evaluando.

Tabla 4. Parámetros que se evaluaron en el Tamizado Hipocrático

Parámetro	Descripción	Cómo se mide	Forma de evaluar
Actividad motora	Capacidad de moverse del animal de un lado al otro.	Se divide el corral en 4 cuadrantes iguales y se observa cuántos recorre.	0=normal - = ausente + = presente
Limpieza de nariz/boca	Se observa si el animal repentinamente se limpia la nariz o la boca de forma ansiosa	Se observa al animal con qué frecuencia se intenta limpiar	0 = normal - = ausente + = presente
Limpieza de cuerpo	Se observa si el animal repentinamente se limpia el cuerpo de forma ansiosa	Se observa al animal con qué frecuencia se intenta limpiar	0 = normal - = ausente + = presente
Bradipnea	Disminución de la frecuencia respiratoria	Se observa al animal en el área del tórax	- = ausente + = presente
Taquipnea	Aumento de la frecuencia respiratoria		- = ausente + = presente

Parámetro	Descripción	Cómo se mide	Forma de evaluar
Respiración abdominal forzada	El animal presenta dificultad respiratoria, abre la boca con una conducta de falta de aire	Se observa al animal en el área del tórax y también si abre el hocico en busca de aire	- = ausente + = presente
Contracción abdominal	El animal tiene contracciones del abdomen, coloca el cuerpo en forma de C	Se observa al animal en el área abdominal	- = ausente + = presente
Erección de la cola (Signo de Straub)	La cola del animal se pone en posición erecta o en forma de S	Se observa la cola del animal	- = ausente + = presente
Piloerección	Contracción del músculo piloerector y el pelo se ve erecto y de apariencia esponjosa	Se observa si el animal se eriza	- = ausente + = presente
Micción	Capacidad de orinar	Se observa la cantidad de micciones que hay en el corral	- = ausente + = presente
Defecación	Capacidad para defecar	Se observa si las heces con sólidas, pastosas o líquidas (diarrea)	- = ausente + = presente
Palidez	Pérdida del color de la piel y las mucosas. Sustancias vasoconstrictoras producen dicho efecto	Se observa el color de las orejas y la cola del animal antes de la administración. La palidez denota cuando la coloración cambia de rosa a blanco.	- = ausente + = presente
Hiperemia	Es un aumento en la irrigación a un órgano o tejido	Se observa el cambio de color rosa a rojo en las orejas y cola del animal	- = ausente + = presente
Cianosis	Es la coloración azulada de la piel, mucosa y lechos ungueales.	Se observa si las mucosas, orejas y patas se ponen morados	- = ausente + = presente
Hiperactividad	Comportamiento muy exaltado, camina y da vueltas en todo el corral, hace intentos de salto.	Se observa al animal	- = ausente + = presente
Hipoactividad	Se observa un comportamiento muy pasivo, permanece inmóvil en un área del corral de observación.	Se observa al animal	- = ausente + = presente

Parámetro	Descripción	Cómo se mide	Forma de evaluar
Ataxia	Marcha incoordinada del animal	Se observa cómo el animal camina	- = ausente + = presente
Pérdida del reflejo de enderezamiento	Pérdida de la postura normal del animal, se mantiene sobre su dorso sin moverse	Se sostiene al animal por la cola y se intenta colocarlo sobre su dorso	- = ausente + = presente
Parálisis de las patas anteriores	Capacidad que tiene el animal de sostenerse de una superficie con sus patas anteriores	Se pone al animal sobre una rejilla se voltea y se observa si se sujeta o no	- = ausente + = presente
Parálisis de las patas posteriores	Capacidad que tiene el animal de sostenerse de una superficie con sus patas posteriores	Se pone al animal sobre una rejilla se voltea y se observa si se sujeta o no	- = ausente + = presente
Analgesia	Pérdida del reflejo doloroso	Se presiona con el dedo pulgar la base de la cola del animal	- = ausente + = presente
Pérdida del reflejo corneal	Pérdida de la respuesta ante un estímulo en la córnea	Con el instrumento que tiene cola de caballo se toca el ojo del animal y se observa si cierra o no el ojo	- = ausente + = presente
Pérdida del reflejo pineal	Pérdida del movimiento del lóbulo de la oreja	Con el instrumento que tiene cola de caballo se estimula el conducto auditivo del animal y se valora la reacción.	- = ausente + = presente
Reacción de alarma	Respuesta del cuerpo ante un sonido	Con un grupo de hojas de papel bond se golpea una superficie firme generando un ruido fuerte, el ratón reacciona saltando para alejarse del área.	- = ausente + = presente
Temblores del cuerpo	Temblores casi imperceptibles	Se observa si el animal tiembla	- = ausente + = presente
Convulsiones tónicas	Movimientos involuntarios de todo el animal con estiramiento de los miembros	Se observa al animal	- = ausente + = presente
Convulsiones clónicas	Convulsiones en forma de bicicleteo	Se observa al animal	- = ausente + = presente

Parámetro	Descripción	Cómo se mide	Forma de evaluar
Fasciculaciones	Contracción incoordinada de los músculos	Se observa al animal sobre la piel	- = ausente + = presente
Exoftalmia	Ojos saltones	Se observan los ojos del animal	- = ausente + = presente
Enoftalmia	Ojos hundidos	Se observan los ojos del animal	- = ausente + = presente
Ptoxis palpebral	Caída del párpado	Se observa el párpado del animal	- = ausente + = presente
Lacrimación	Presencia de lágrimas	Con un círculo construido con papel filtro, se dobla y se forma una esquina, que luego es colocada en el ángulo interno del ojo del ratón para absorber las lágrimas, se procede a dibujar el área mojada y posteriormente se pasa a un papel milimetrado en donde se suman todos los cuadritos y posteriormente se obtiene el valor numérico utilizando la fórmula: $2\sqrt{n/\pi}$ En donde n representa el número total de cuadritos contados.	Se mide en milímetros
Cromodacriorrea	Lágrimas con pigmento rojo	Se observan los ojos del animal	- = ausente + = presente
Sialorrea	Exceso de saliva, apreciable en el animal al mojar con ella el pelaje de alrededor de la boca	Con un círculo construido con papel filtro, se doble y se forma una esquina, que luego es colocada en la en la comisura de la boca, se procede a dibujar el área mojada y posteriormente se pasa a un papel milimetrado en donde se suman todos los cuadritos y posteriormente se obtiene el valor	Se mide en milímetros

Parámetro	Descripción	Cómo se mide	Forma de evaluar
		numérico utilizando la fórmula: $2 \sqrt{n/\pi}$ En donde n representa el número total de cuadritos contados.	
Priapismo	Erección del pene	Si es macho, se observa el pene del animal	- = ausente + = presente
Colpectasia	Descarga del canal vaginal, ya sea clara o lechosa o si la mucosa alrededor de la vagina está inflamada o rojiza.	Si es hembra, se observa la vagina del animal	- = ausente + = presente
Signo de Robichaud	Nos indica el grado de deshidratación que hay en el organismo	Se sostiene la piel del lomo del animal entre el dedo pulgar y el índice, se observa si la piel se queda en esa posición	- = ausente + = presente
Catalepsia	Tiempo en el que el animal está situado de una forma no natural.	Se observa la posición del animal	- = ausente + = presente
Agresividad	Comportamiento del animal; al intentar manipularlo, el ratón tiende a morder o se coloca en una postura a la defensiva	Se intenta manipular	- = ausente + = presente
Pasividad	Comportamiento del animal; al intentar manipularlo no pone resistencia al contacto	Se manipula el animal sin resistencia	- = ausente + = presente
Temerosidad	Temor al medio que lo rodea	Se manipula el animal y este no rehúye al contacto	- = ausente + = presente
Muerte	Cese de todas las funciones vitales del animal		- = ausente + = presente



Figura 14. Administración de veneno de escorpión por vía i.v. en la vena caudal del ratón.

3.7. Pruebas de hematología y química sanguínea

3.7.1. Administración de veneno

Antes de la inoculación del veneno los ratones fueron anestesiados con isoflurano (Terrell®), utilizando un frasco de anestesia con un volumen de 2 L, por lo que se le impregnó 1 mL de isoflurano en una torunda de algodón, según lo revisado en la bibliografía (Risling et al., 2012; Sánchez Palomino et al., 2020) y estandarizados en las diferentes investigaciones realizadas por el CIIMET. Una vez anestesiado el animal (8 segundos), fue sacado del frasco y se procedió a inocular 0.2 mL de veneno por vía i.v., ver **Figura 14**. Para estas pruebas, los ratones fueron inyectados siguiendo el mismo esquema de dosis del tamizado hipocrático y se realizó para cada tiempo individual, es decir, para cada tiempo a evaluar (0, 5, 15, 30, 60, 180 y 1440 minutos) se utilizó un grupo de ratones diferentes.

3.7.2. Obtención de muestra de sangre

Con base en la técnica descrita en el ensayo anterior, los animales fueron previamente anestesiados con isoflurano, una vez anestesiado (tiempo de 15 segundos), el ratón se sacó del frasco, y se procedió con la extracción de sangre. Para obtener un mayor volumen sanguínea de un solo animal, se obtuvo la muestra por punción intracardiaca (i.c) (**Figura 15**), y se sacó, aproximadamente, un

volumen de 0.9 mL, ya que se prefirió sacar este volumen de sangre en un solo animal que utilizar más animales. Este volumen, se separó en 0.7 mL para tubos de química de 1 mL con gel separador, 0.2 mL en tubos con anticoagulante EDTA de 1 mL y una gota en portaobjetos para el extendido sanguíneo. Los tubos de química fueron centrifugados a 3500 rpm durante 10 minutos; posteriormente, el suero fue separado y colocado en tubos cónicos de 0.5 mL, rotulados adecuadamente y se guardaron hasta su respectivo análisis. Las muestras se obtuvieron en los tiempos 0, 5, 15, 30, 60, 180 y 1440 minutos, siguiendo el mismo esquema de dosis y cantidad de ratones que en el tamizado hipocrático. Cabe aclarar que este procedimiento de extracción de sangre solo se le realizó una vez a cada animal, ya que fueron grupos diferentes en cada tiempo para cada dosis que se estuvo evaluando.



Figura 15. Extracción de sangre por vía i.c.

3.7.3. Determinaciones analíticas del hemograma completo por técnicas de espectrofotometría, principio Coulter y frotis de sangre periférica

3.7.3.1. Hemograma automatizado

Una vez obtenida la muestra total de sangre, en los tubos con anticoagulantes EDTA, se procedió a leerlas en el equipo Mythic 18 Vet de la marca *Orphée*®, ver **Figura 16a**, con reactivos HMVET-010 M-Pack para Mythic 18 Vet (**Figura 16b**). Se emplearon controles de calidad Myt-3D nivel bajo, normal y alto, para Mythic 18 Vet, esto para verificar la estabilidad de rendimiento analítico del equipo.

a. Principio de la determinación espectrofotométrica y principio Coulter

El recuento de los elementos celulares en una muestra de sangre se realiza con el principio de impedancia o resistencia eléctrica (principio Coulter) (Hernández-Reyes, 2013). La medición de la hemoglobina se realiza por espectrofotometría a 555 nm y se detecta mediante la formación de un cromógeno de oxihemoglobina para una solución lítica sin cianuro. El análisis de leucocitos se realiza por impedancia en la cámara de recuento de leucocitos. El análisis de eritrocitos se realiza por impedancia en la cámara de recuento de glóbulos rojos y mediante análisis de hemoglobina dentro de la cámara de glóbulos blancos, el análisis de plaquetas se realiza por impedancia en la cámara de recuento de glóbulos rojos al mismo tiempo que los glóbulos rojos (Orphée®, 2021).



Figura 16. Equipo de hematología veterinaria.

a. Mythic 18 Vet de la marca Orphée®, b. reactivos HMVET-010 M-Pack para Mythic 18 Vet.

En la **Tabla 5**, se muestran los parámetros que se determinaron en el hemograma automatizado y los que se realizaron por frotis.

Tabla 5. Descripción de los parámetros evaluados en el hemograma completo

Parámetros	Abreviaturas	Definición	Unidades de Medición
Parámetros eritrocitarios			
Glóbulos Rojos	GR	Consiste en determinar la cantidad de glóbulos rojos (GR) en sangre periférica por unidad de volumen por microlitro.	$10^6/\mu\text{L}$
Hemoglobina	HGB	Es el principal componente de los GR, es una proteína transportadora de oxígeno. Se mide el compuesto estable, la cianometahemoglobina.	g/dL
Hematocrito	HCT	Es el porcentaje que, del volumen total de la sangre, corresponde a los GR. Es una medición compuesta por el tamaño y número de los GR.	%
Volumen Corpuscular Medio	VCM	Es un índice sanguíneo que permite medir el tamaño promedio de los GR. Se calcula a través del hematocrito y el recuento de GR.	fL
Hemoglobina Corpuscular Media	HCM	Indica la cantidad promedio de hemoglobina contenida en cada hematíe. Se calcula a través de la hemoglobina y los GR.	pg
Concentración de Hemoglobina Corpuscular Media	CHCM	Es la concentración de hemoglobina promedio por 100 mL de GR.	g/dL
Amplitud de Distribución Eritrocitaria	ADE	Es una medida de la variación del tamaño de los GR, que se refleja en el grado de anisocitosis en el frotis de la sangre periférica.	%
Parámetros leucocitarios			
Glóbulos Blancos	GB	Los leucocitos son las células de la sangre encargadas de reconocer y eliminar cualquier agente extraño del organismo; son, por tanto, un componente fundamental en la lucha contra la infección y el desarrollo de la reacción inflamatoria, mediante la emisión de una respuesta inmune.	$10^3/\mu\text{L}$

Parámetros	Abreviaturas	Definición	Unidades de Medición
Neutrófilos*	NEU	Los granulocitos neutrófilos son las células más importantes en la defensa natural del huésped contra los microorganismos, especialmente, bacterias y hongos, mediante el proceso de fagocitosis; lo que explica el elevado riesgo de infección asociado a la neutropenia o disfunción de los neutrófilos. Gran parte de esta función está mediada por los gránulos existentes en su citoplasma.	%
Eosinófilos*	EOS	Se encargan de la defensa contra los agentes infecciosos y de activar la acción de los linfocitos T y estimular la producción de anticuerpos IgM en las células B.	%
Basófilos*	BAS	Libera histamina en respuesta a las reacciones alérgicas e inflamatorias, aunque también se encarga de liberar heparina para fluidificar la sangre.	%
Linfocitos*	LIN	Tienen la capacidad de proteger al cuerpo contra las infecciones, diferenciando a las células del propio cuerpo de las sustancias extrañas.	%
Monocitos*	MON	Elimina las células muertas de las zonas del cuerpo en las que se ha producido una infección.	%
Parámetros plaquetarios			
Plaquetas	PLT	Forma coágulos de sangre que ayudan a sanar las heridas y a prevenir el sangrado.	$10^3/\mu\text{L}$

*Determinados por frotis de sangre periférica

3.7.3.2. Frotis de sangre periférica

Para el análisis del diferencial de células blancas de forma manual se utilizó una gota de sangre total sin anticoagulante (tomada de la misma extracción mencionada anteriormente), siguiendo lo descrito por (Carr & Rodak, 2017). Posteriormente, las placas fueron teñidas con el tinte panóptico rápido de la marca LaborClim®, el cual es utilizado para el diagnóstico y caracterización de leucocitos, funciona como una tinción diferencial, además, se caracteriza por su gran rapidez de

ejecución (15 segundos) y por la peculiaridad de ser un método de inmersión (PanReac AppliChem, 2023).

Las placas fueron sumergidas en los colorantes de la siguiente manera para ser teñidas: se realizaron 5 inmersiones de 1 segundo en solución fijadora que es el metanol, se escurrieron y se procedió a realizar 5 inmersiones más de 1 segundo en la solución ácida que es la eosina, se escurren nuevamente y luego se realizaron las últimas 5 inmersiones de 1 segundo en la solución básica que es azul de metileno, finalmente se lavaron con agua y se dejaron secar, como se muestra en la **Figura 17**. Una vez que las placas estaban secas, se procedió a leerlas en el microscopio óptico modelo DM 750 de la marca Leica Microsystems® con objetivo de inmersión (100x) y se realizó el diferencial de células blancas, expresándolas en porcentaje.

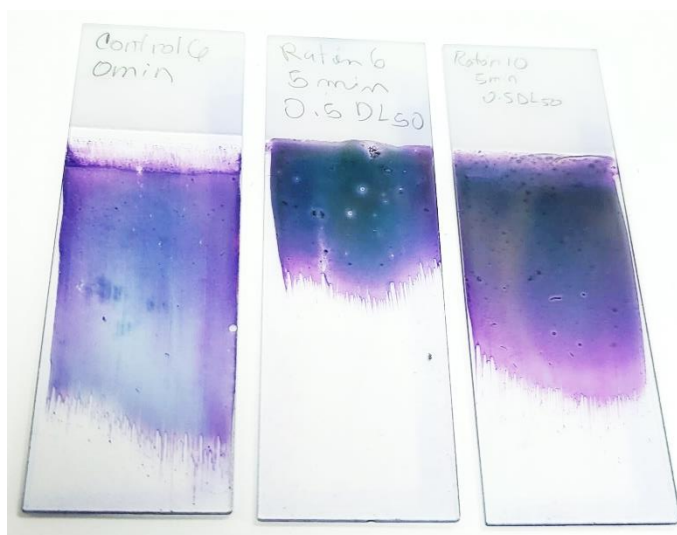


Figura 17. Frotis de sangre periférica
Placas teñidas con la tinción de panóptico rápido

3.7.4. Determinaciones analíticas de química sanguínea por técnica de espectrofotometría UV/visible

Una vez que se obtuvo el suero, se hicieron determinaciones séricas de glucosa (mg/dL), amilasa (U/L), creatina kinasa (U/L), creatina kinasa MB (U/L), creatinina (mg/dL), nitrógeno de urea (mg/dL), sodio (mmol/L) y potasio (mmol/L), utilizando el espectrofotómetro modelo HumaLyzer

4000 y los reactivos de la marca Human Diagnostic Worldwide®, se emplearon controles de calidad HumaTrol N a base de suero bovino para todas las determinaciones, excepto la CK-MB, cuyo control fue CK-MB Controls que era suero humano liofilizado. Los parámetros fueron evaluados al tiempo 0, 5, 15, 30, 60, 180 y 1440 minutos. El tiempo 0 min se utilizó como control y de esta forma se obtuvo la medición basal de dichas pruebas. A continuación, se describe la metodología utilizada para cada prueba bioquímica realizada.

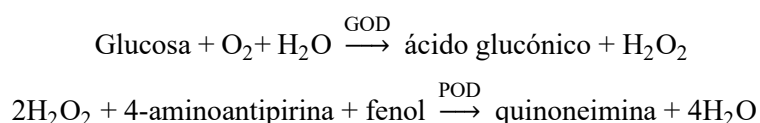
3.7.4.1. Determinación sérica de glucosa

Para la determinación de la glucosa sérica se utilizó el reactivo GLUCOSE liquicolor®, el cual utiliza el método de punto final a través de la reacción de Trinder, el cual se describe a continuación.

a. Principio del método

La glucosa se determina después de la formación del ácido glucónico (metabolito de oxidación de la glucosa catalizado por la glucosa oxidasa) y peróxido de hidrógeno. El peróxido de hidrógeno formado reacciona bajo catálisis de peroxidasa con fenol y 4-aminofenazona, formando un complejo rojo-violeta, usando la quinoneimina como indicador, cuya intensidad de color es proporcional a la concentración de glucosa en la muestra (Trinder, 1969).

b. Principio de la reacción



c. Procedimiento operacional para la determinación

El procedimiento para esta determinación se realizó como se muestra en la **Tabla 6**. La longitud de onda utilizada fue 546 nm y el procedimiento se realizó a 37 °C, frente a blanco reactivo. Este reactivo enzimático es una mezcla de buffer fosfato (pH 7,5), 4-aminoantipirina, fenol, glucosa oxidasa, peroxidasa, mutarotasa y azida de sodio.

Tabla 6. Procedimiento para la determinación de glucosa sérica.

Contenido en cada tubo	Blanco	Patrón	Control	Muestra
Patrón de glucosa (100 mg/dL)	----	10 µL	----	----
Control HumaTrol N	----	----	10 µL	----
Suero murino	----	----	----	10 µL
Reactivo	1 mL	1 mL	1 mL	1 mL

Todos los tubos de ensayos se mezclaron vigorosamente y se incubaron a 37°C por 5 minutos. Al cabo de este tiempo, se leyó la absorbancia de la muestra. El color desarrollado era estable por un período de 60 minutos (Human Diagnostics Worldwide Glucosa, 2019).

d. Cálculo de la concentración de glucosa

Para obtener el valor numérico de la glucosa, se realizó el siguiente cálculo:

$$\text{Glucosa} = 100 \times \frac{\Delta A_{\text{muestra}}}{\Delta A_{\text{patrón}}} \text{ [mg/dL]}$$

Este cálculo lo hace el espectrofotómetro, previamente, programado para la prueba.

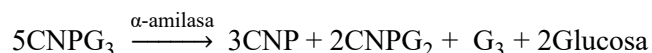
3.7.4.2. Determinación sérica de amilasa

Para la determinación de la amilasa, se utilizó el reactivo alpha-AMILASE liquicolor®, el cual utiliza el método enzimático, a través de la reacción colorimétrica que utiliza 2-cloro-4-nitrofenil-maltotriosido, el cual se describe a continuación.

a. Principio del método

La prueba colorimétrica utiliza el sustrato, 2-cloro-4-nitrofenil-maltotriósido (CNPG₃), el cual reacciona directamente con la α-amilasa y no requiere enzima de restricción. La liberación de 2-cloro-nitrofenol (CNP) del sustrato (producto amarillo) incrementa la absorbancia por minuto, la cual es directamente proporcional a la concentración catalítica de la α-amilasa en la muestra (Foo & Bais, 1998).

b. Principio de la reacción



c. Procedimiento operacional para la determinación

El procedimiento para esta determinación se realizó como se muestra en la **Tabla 7**. La longitud de onda utilizada fue 405 nm y el procedimiento se realizó a 37 °C, frente a agua como blanco reactivo.

Tabla 7. Procedimiento para la determinación de amilasa sérica.

Contenido en cada tubo	Blanco	Control	Muestra
Agua destilada	1 mL	----	----
Control HumaTrol N	----	10 µL	----
Suero murino	----	----	10 µL
Reactivo	----	1 mL	1 mL

Cada tubo de ensayo que contenía la mezcla de reactivo (MES buffer (pH 6.0), CNPG3, acetato de calcio, cloruro de sodio, tiocianato de potasio, azida de sodio) más la muestra; se incubó a 37°C por 1 minutos. Al cabo de este tiempo, se leyó la absorbancia de la muestra y después de 1, 2 y 3 minutos (Human Diagnostics Worldwide Amilasa, 2020).

d. Cálculo de la concentración de amilasa

Para obtener el valor numérico de la amilasa, determinó la media de la diferencia de absorbancia por minuto y se utilizó la siguiente fórmula:

$$\text{Amilasa} = \frac{\Delta \text{Amuestra}}{\text{minuto}} \times 10183 \text{ [U/L]}$$

Este cálculo lo hace el espectrofotómetro, cuando, previamente, se programa la prueba.

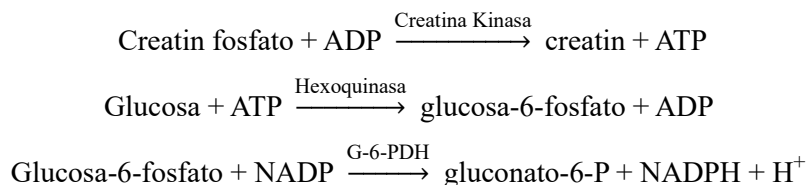
3.7.4.3. Determinación sérica de creatina kinasa

Para la determinación de la creatina kinasa, se utilizó el reactivo CK NAC liquiUV®, el cual utiliza el método enzimático estándar modificado de acuerdo con las recomendaciones del Comité Europeo de Estándares para Laboratorio Clínico (ECCLS) y la Federación Internacional de Química Clínica (IFCC) (Schumann et al., 2002).

a. Principio del método

La enzima creatina kinasa se determina después de que esta cataliza la fosforilación del ADP por el fosfato de creatina, obteniéndose creatina y ATP. La concentración catalítica se determina, empleando reacciones acopladas de la HK y G6PDH, a partir de la velocidad de formación del NADPH.

b. Principio de la reacción



c. Procedimiento operacional para la determinación

El procedimiento para esta determinación se realizó como se muestra en la **Tabla 8**. La longitud de onda utilizada fue de 340 nm y el procedimiento se realizó a 37 °C, contra aire.

Tabla 8. Procedimiento para la determinación de creatina kinasa sérica.

Contenido en cada tubo	Control	Muestra
Control HumaTrol N	10 µL	----
Suero murino	----	10 µL
Reactivo de trabajo*	1 mL	1 mL

*El reactivo de trabajo se preparó mezclando 4 partes de la enzima con una parte del sustrato.

Ejemplo: 8 mL de enzima + 2 mL sustrato.

Cada tubo de ensayo contenía el reactivo enzimático (que era una mezcla de buffer imidazol pH 6,2, glucosa, acetato de magnesio, EDTA, N-acetilcisteína, pentafofato de diadenosina, NADP, HK, y azida de sodio; sustrato (compuesto por ADP, G6PDH, creatin fosfato y azida de sodio) más la muestra; estos fueron incubados a 37°C por 5 minutos. Al cabo de este tiempo, se leyó la absorbancia de la muestra y después de 1, 2 y 3 minutos (Human Diagnostics Worldwide CK, 2020).

d. Cálculo de la concentración de creatina kinasa

Para obtener el valor numérico de la creatina kinasa, se determinó la media de la diferencia de absorbancia por minuto y se utilizó la siguiente fórmula:

$$\text{CK} = \frac{\Delta \text{Amuestra}}{\text{minuto}} \times 6508 \text{ [U/L]}$$

Este cálculo lo hace el espectrofotómetro, previamente, programado para la prueba.

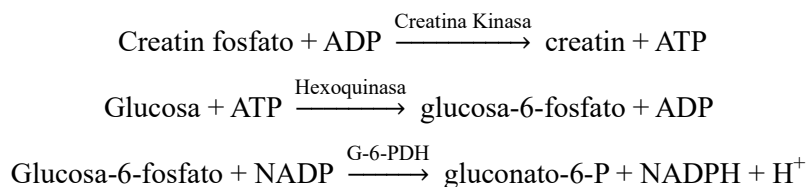
3.7.4.4. Determinación sérica de creatina kinasa MB

Para la determinación de la creatina kinasa, se utilizó el reactivo CK-MB liquiUV®, el cual utiliza la técnica por inmunoinhibición, el cual se describe a continuación.

a. Principio del método

La enzima creatina kinasa MB se determina después de la inmunoinhibición de la subunidad CK-M por anticuerpos específicos; estos anticuerpos no afectan la actividad de la subunidad CK-B. De este modo, las subunidades B se determinan mediante el empleo de un sistema reactivo basado en una técnica analítica optimizada por IFFC, empleando N-acetilcisteína, como activador, adicionando anticuerpos anti CK. En este sentido, la actividad de la CK-BB es mínima en circulación por lo que la actividad medida por esta técnica y multiplicada con un factor de 2, representa la actividad de la CK-MB, esta reacción cataliza la fosforilación del ADP por el fosfato de creatina, obteniéndose creatina y ATP. La concentración catalítica se determina, empleando reacciones acopladas de la HK y G6PDH, a partir de la velocidad de formación del NADPH (Würzburg et al., 1976).

b. Principio de la reacción



c. Procedimiento operacional para la determinación

El procedimiento para esta determinación se realizó como se muestra en la **Tabla 9**. La longitud de onda utilizada fue de 340 nm y el procedimiento se realizó a 37 °C, contra aire.

Tabla 9. Procedimiento para la determinación de creatina kinasa – MB sérica.

Contenido en cada tubo	Control	Muestra
Control CK-MB	10 µL	----
Suero murino	----	10 µL
Reactivo de trabajo*	1 mL	1 mL

*El reactivo de trabajo se preparó mezclando 4 partes de la enzima con una parte del sustrato.

Ejemplo: 8 mL de enzima + 2 mL sustrato.

Cada tubo de ensayo contenía el reactivo enzimático (que era una mezcla de buffer imidazol pH 6,2, glucosa, acetato de magnesio, EDTA, N-acetilcisteína, pentafofato de diadenosina, NADP, HK, anticuerpos murinos monoclonales anti-CK y azida de sodio; sustrato (compuesto por ADP, G6PDH, creatin fosfato y azida de sodio) más la muestra; estos fueron incubados a 37°C por 5 minutos. Al cabo de este tiempo, se leyó la absorbancia de la muestra y después de 1, 2 y 3 minutos (Human Diagnostics Worldwide CK-MB, 2019).

d. Cálculo de la concentración de creatin kinasa - MB

Para obtener el valor numérico de la amilasa, se determinó la media de la diferencia de absorbancia por minuto y se utilizó la siguiente fórmula:

$$\text{CK-MB} = \frac{\Delta A_{\text{muestra}}}{\text{minuto}} \times 6666 \text{ [U/L]}$$

Este cálculo lo hace el espectrofotómetro, previamente, programado para la prueba.

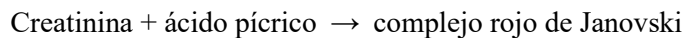
3.7.4.5. Determinación sérica de creatinina

Para la determinación de la creatinina se utilizó el reactivo Creatinine liquicolor®, el cual utiliza el método cinético de Jaffe, el cual se describe a continuación.

a. Principio del método

La creatinina se determina después de la formación de un complejo rojo-naranja con ácido pícrico. La absorbancia de este complejo es directamente proporcional a la concentración de creatinina en la muestra (Jaffe, 1886).

b. Principio de la reacción



c. Procedimiento operacional para la determinación

El procedimiento para esta determinación se realizó como se muestra en la **Tabla 10**. La longitud de onda utilizada fue de 505 nm y el procedimiento se realizó a 37 °C, contra aire.

Tabla 10. Procedimiento para la determinación de creatinina sérica

Contenido en cada tubo	Patrón	Control	Muestra
Patrón de creatinina (2.0 mg/dL)	100 µL	----	----
Control HumaTrol N	----	100 µL	----
Suero murino	----	----	100 µL
Reactivo de trabajo*	1 mL	1 mL	1 mL

*El reactivo de trabajo se preparó mezclando: 1 parte de NaOH (que previamente se preparaba diluyendo el NaOH con agua destilada en proporción 1 + 7) más 1 parte del reactivo ácido pícrico.

Cada tubo de ensayo contenía el ácido pícrico, NaOH más la muestra, luego de 30 segundos se leyó la absorbancia 1 y la absorbancia 2 fue leída exactamente al minuto 2 (Human Diagnostics Worldwide Creatinina, 2020).

d. Cálculo de la concentración de creatinina

Para obtener el valor numérico de la creatinina, se determinó la media de la diferencia de absorbancia por minuto y se utilizó la siguiente fórmula:

$$\text{Creatinina} = 2.0 \times \frac{\Delta A_{\text{muestra}}}{\Delta A_{\text{estándar}}} \quad [\text{mg/dL}]$$

Este cálculo lo hace el espectrofotómetro, previamente, programado para la prueba.

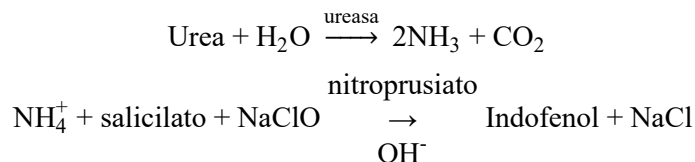
3.7.4.6. Determinación sérica de nitrógeno de urea

Para la determinación del nitrógeno de urea, se utilizó el reactivo Urea liquicolor®, el cual utiliza la reacción de Berthelot, el cual se describe a continuación.

a. Principio del método

El nitrógeno de urea se determina después de la hidrolización de la urea por acción de la ureasa en presencia de agua para formar amoníaco y dióxido de carbono (Berthelot, 1859). En la reacción de Berthelot modificada, los iones de amonio reaccionan con hipoclorito y salicilato para formar un complejo verde. La absorbancia de este complejo es directamente proporcional a la concentración de urea en la muestra (Fawcett & Scott, 1960; Tabacco et al., 1979).

b. Principio de la reacción



c. Procedimiento operacional para la determinación

El procedimiento para esta determinación se realizó como se muestra en la **Tabla 11**. La longitud de onda utilizada fue de 546 nm y el procedimiento se realizó a 37 °C, contra blanco de reactivo.

Tabla 11. Procedimiento para la determinación de nitrógeno de urea sérico

Contenido en cada tubo	Blanco	Patrón	Control	Muestra
Patrón de urea (80 mg/dL)	----	10 µL	----	----
Control HumaTrol N	----	----	10 µL	----
Suero murino	----	----	----	10 µL
Reactivo 1	1 mL	1 mL	1 mL	1 mL
Mezclar e incubar por 3 minutos a 37°C				
Reactivo 2	1 mL	1 mL	1 mL	1 mL

Cada tubo de ensayo que contenía el reactivo 1 (buffer fosfato (pH 7,0), salicilato de sodio, nitroprusiato de sodio, EDTA y la enzima ureasa), se incubó por 3 minutos a 37 °C, pasado el tiempo se añadió el reactivo 2 compuesto por buffer fosfato (pH <13) e hipoclorito de sodio y se incubó por 5 minutos a 37°C. Al cabo de este tiempo, se leyó la absorbancia de la muestra. El color desarrollado era estable por un período de 60 minutos (Human Diagnostics Worldwide Urea, 2021).

d. Cálculo de la concentración de nitrógeno de urea

Primero se obtuvo el valor de la urea y con ese valor multiplicándose por 0.47 obteníamos el valor del nitrógeno de urea; se procedió de la siguiente manera:

$$\text{Urea} = 80 \times \frac{\Delta A_{\text{muestra}}}{\Delta A_{\text{patrón}}} \text{ [mg/dL]}$$

Este cálculo lo hace el espectrofotómetro previamente programado para la prueba.

$$\text{Nitrógeno de urea} = 0.47 \times \text{concentración de urea} \text{ [mg/dL]}$$

Este cálculo se realizó de forma manual.

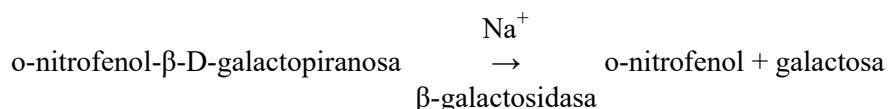
3.7.4.7. Determinación sérica de sodio

Para la determinación de sodio, se utilizó el reactivo Sodium liquicolor®, basado en la determinación de la actividad de la beta-galactosidasa dependiente de sodio, el cual se describe a continuación.

a. Principio del método

El sodio se determina enzimáticamente mediante la actividad de la β -galactosidasa que depende de sodio con o-nitrofenol- β -D-galactopiranososa (ONPG) como sustrato. La absorbancia a 405 nm del producto o-nitrofenol es proporcional a la concentración de sodio en la muestra (Berry et al., 1988).

b. Principio de la reacción



c. Procedimiento operacional para la determinación

El procedimiento para esta determinación se realizó como se muestra en la **Tabla 12**. La longitud de onda utilizada fue de 405 nm y el procedimiento se realizó a 37 °C, con una curva de calibración de dos puntos.

Tabla 12. Procedimiento para la determinación de sodio sérico

Contenido en cada tubo	Patrón 1	Patrón 2	Control	Muestra
Patrón de sodio 1 (90 mmol/L)	30 μ L	----	----	----
Patrón de sodio 2 (180 mmol/L)	----	30 μ L		
Control HumaTrol N	----	----	30 μ L	----
Suero murino	----	----	----	30 μ L
Reactivo 1 enzima	0.750 mL	0.750 mL	0.750 mL	0.750 mL
Mezclar e incubar por 5 minutos a 37°C				
Reactivo 2 sustrato	0.250 mL	0.250 mL	0.250 mL	0.250 mL

Cada tubo de ensayo que contenía el reactivo 1 (buffer tris, criptando y β -galactosidasa) se incubó por 5 minutos a 37 °C con la muestra, pasado el tiempo se agregó el reactivo 2 compuesto por

buffer tris y o-nitrofenol galactosido; se mezcla y se lee la absorbancia exactamente después de 1, 2 y 3 minutos en forma consecutiva (Human Diagnostics Worldwide Sodio, 2016).

d. Cálculo de la concentración del sodio

Para este ensayo se realiza la curva de calibración de dos puntos con los ΔA de los patrones 1 y 2 con sus respectivas concentraciones. Luego se interpoló la concentración con el respectivo ΔA de la muestra. Este cálculo lo hace el espectrofotómetro previamente programado para la prueba.

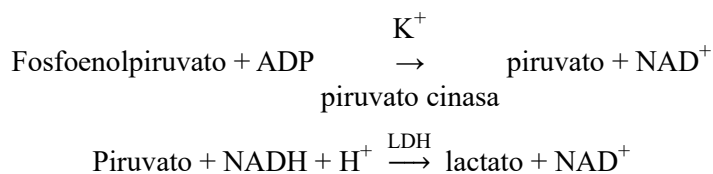
3.7.4.8. Determinación sérica de potasio

Para la determinación de potasio, se utilizó el reactivo Potassium liquiUV®, basado en la determinación de la actividad de la piruvato cinasa dependiente de potasio, el cual se describe a continuación.

a. Principio del método

El potasio se determina enzimáticamente mediante la actividad de la piruvato cinasa que depende de potasio, empleando fosfoenolpiruvato (PEP) como sustrato. El piruvato producido reacciona con $\text{NADH} + \text{H}^+$ en presencia de LDH y forma lactato y NAD^+ . La disminución de la absorbancia del producto a 340 nm es proporcional a la concentración de potasio en la muestra.

b. Principio de la reacción



c. Procedimiento operacional para la determinación

El procedimiento para esta determinación se realizó como se muestra en la **Tabla 13**. La longitud de onda utilizada fue de 340 nm y el procedimiento se realizó a 37 °C, con una curva de calibración de dos puntos.

Tabla 13. Procedimiento para la determinación de potasio sérico

Contenido en cada tubo	Patrón 1	Patrón 2	Control	Muestra
Patrón de potasio 1 (2 mmol/L)	20 µL	----	----	----
Patrón de potasio 2 (8 mmol/L)	----	20 µL		
Control HumaTrol N	----	----	20 µL	----
Suero murino	----	----	----	20 µL
Reactivo 1 enzima	0.750 mL	0.750 mL	0.750 mL	0.750 mL
Mezclar e incubar por 5 minutos a 37°C				
Reactivo 2 sustrato	0.250 mL	0.250 mL	0.250 mL	0.250 mL

Cada tubo de ensayo que contenía el reactivo 1 (buffer tris, criptando, PEP, ADP, alfa-oxoglutarato, NADH, y piruvato cinasa) se incubó por 5 minutos a 37 °C con la muestra, pasado el tiempo se agregó el reactivo 2 que era la enzima LDH, se mezcló y se incubó durante 2 minutos, luego se leyó la absorbancia inicial a 340 nm y luego exactamente después de 1, 2 y 3 minutos en forma consecutiva (Human Diagnostics Worldwide Potasio, 2018).

d. Cálculo de la concentración del potasio

Para este ensayo, se realiza la curva de calibración de dos puntos con los ΔA de los patrones 1 y 2 con sus respectivas concentraciones. Luego, se interpoló la concentración con el respectivo ΔA de la muestra. Este cálculo lo hace el espectrofotómetro, previamente, programado para la prueba.

3.8. Fraccionamiento del veneno de *Tityus (Atreus) sp.* por técnica cromatográfica y evaluación de la actividad biológica *in vivo* e *in vitro* de algunas fracciones

3.8.1. Separación de las proteínas del veneno de *Tityus (Atreus) sp.*

Se utilizó el método de cromatografía líquida de alta resolución de fase reversa (*Reversed Phase High-Performance Liquid Chromatography*, RP-HPLC), para la separación de las diferentes fracciones del veneno de *Tityus (Atreus) sp.* Para ello, se reconstituyó 1.8 mg de veneno entero en agua tipo I y se centrifugó por 2 min a 14000 rpm. El sobrenadante se fraccionó en una columna analítica de fase reversa C4 Vydac 214 TP (250 mm x 4.6 mm, 5 µm, tamaño de poro 300 Å), se equilibró, previamente con eluyente A (TFA al 0.1% v/v en agua desionizada Milli-Q®), utilizando un equipo de cromatografía líquida de alta eficiencia, modelo 1260 Infinity II de la marca Agilent

equipado con detector de arreglo de diodos controlado mediante el software Chemstation Agilent, las fracciones se eluyeron con flujo de 1 mL/min y gradiente lineal de eluyente A hasta 60% de eluyente B (TFA al 0.1% v/v en acetonitrilo) durante 60 minutos. Para la preparación de los eluyentes, se utilizaron solventes y reactivos grado HPLC (Sigma-Aldrich y VWR BDH® Chemicals), y para todos los efectos se utilizó agua tipo I. Las fracciones fueron colectadas de forma manual monitoreando la absorbancia a 230 nm, se secaron en un concentrador Savant SpeedVac Concentrator SPD1010 y se guardaron en frío hasta su uso.

3.8.2. Cuantificación de proteínas presentes en las fracciones del veneno de *Tityus (Atreus) sp.*

Una vez obtenidas las fracciones durante la separación cromatográfica y que estaban secas, se reconstituyeron con agua Milli-Q y se determinó la concentración proteica mediante la absorbancia a una longitud de onda de 280 nm, utilizando el equipo NanoDrop One™ de Thermo Scientific.

3.8.3. Determinación de la actividad miotóxica en ratones

Cinco grupos de 4 ratones cada uno fueron inoculados por vía intramuscular (i.m.) en el músculo gastrocnemio (**Figura 18**), el primer grupo recibió 100 µL de agua Milli-Q (grupo control), el segundo, tercer y cuarto grupo recibió 10µg de cada fracción del veneno (tiempo de retención de cada fracción 37.248, 37.993 y 50.775 minutos, respectivamente) en 100 µL de agua Milli-Q, el quinto grupo recibió 10µg veneno crudo en 100 µL de agua Milli-Q. Después de 1 hora, se obtuvo sangre como se describe en el apartado 3.7.2. Para medir la actividad de CK, se siguió el protocolo del apartado 3.7.4.3. (Escobar et al., 2002).

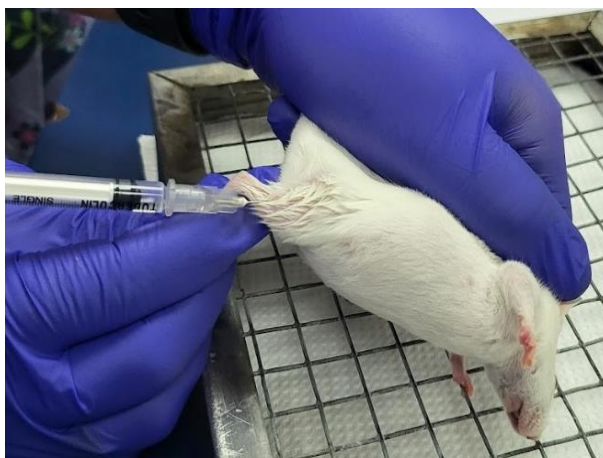


Figura 18. Administración de veneno de escorpión por vía i.m. en el músculo gastrocnemio del ratón.

3.8.4. Determinación de la actividad hialuronidasa en gel de poliacrilamida

Para la determinación de la actividad hialuronidasa, se siguió una versión modificada del método descrito por (Cévallos et al., 1992), en el cual se preparó un gel de agarosa – ácido hialurónico al 12%. El ácido hialurónico de cordón umbilical coopolimeriza con el gel separador a una concentración final de 0.5 mg/mL. Se prepararon concentraciones de 3µg, de cada fracción del veneno de *Tityus (Atreus) sp.* a probar, 5µg de veneno completo de *Tityus (Atreus) sp.* y 1µg de veneno de *Tliltocatl vagans (T. vagans)* como control positivo. Después de la electroforesis, el gel se incubó en 50 mL de buffer acetato de sodio ácido/acético glacial 0.1 M, pH 8, NaCl 0.15M, Tritón X-100 5%, por una hora. Después, se incubó con 25 mL de buffer acetato de sodio ácido/acético glacial 0.1 M, pH 8, NaCl 0.15M, 0.05 % Tritón X-100, por una hora; posteriormente, en 25 mL de buffer acetato de sodio ácido/acético glacial 0.1 M pH 8, NaCl 0.15M, se volvió a incubar por 10 minutos. Finalizada las incubaciones, el gel fue dejado en cámara húmeda, toda una noche a temperatura ambiente. Se realizaron 2 lavados, con 50 mL de buffer 0.015 M Tris-HCl, pH 8, por 15 minutos cada uno, y se tiñó por 2 horas, con una solución de 5% de formamida, 20% de isopropanol, buffer 0.015 M Tris-HCl, pH 8 y 5 mL de 0.1 % de tinte “Stains all”, sin exponerse a la luz. Luego, se destiñó con formamida 5%, isopropanol 20%, y 0.015 M Tris-HCl buffer pH 8, para evidenciar la actividad mediante la formación de una banda sin teñir. Cada uno de los pasos, se realizó en agitación constante, a temperatura de 25 °C.

3.9. Análisis estadístico

Los resultados de lacrimación y sialorrea del tamizado hipocrático se expresan como la media $\pm$ DE. Los datos de hemograma y química sanguínea se analizaron con un ANOVA unidireccional seguido de la prueba de Dunnett cuando había más de dos tiempos a evaluar en cada dosis y, cuando solo había un tiempo (según la sobrevivencia de los ratones), se utilizó la prueba de t de Student, para comparar diferencias estadísticamente significativas con el grupo control, utilizando paquete de recursos de Real Statistics para usar con Excel 365. La interacción entre dosis y tiempo, en los parámetros evaluados se analizó mediante un ANOVA de dos factores con el software R. Los resultados se expresan como la media $\pm$ DE. Se consideró cambios significativos aquellos con valores de $p < 0.05$.

CAPÍTULO CUARTO

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4. Resultados y discusión

4.1. Resultados

En la primera parte del reporte de resultados, se presentan todos los datos obtenidos en los envenenamientos experimentales utilizando la técnica del tamizado hipocrático, estos resultados se expresan con base a 5 ratones en el denominador, lo equivalente al 100% de los animales ensayados en cada experimento, cabe mencionar que a medida que los ratones morían, el número del denominador cambiaba de acuerdo con los ratones que seguían vivos. En la segunda parte, se redactan los resultados de hematología y química sanguínea; en la tercera parte, se presentan los resultados del análisis proteómico del veneno de *Tityus (Atreus) sp.*

4.1.1. Envenenamiento experimental con veneno de escorpión *Tityus (Atreus) sp.*

Todos los ratones que fueron inoculados con alguna de las dosis de veneno de *Tityus (Atreus) sp.* (0.5, 1 y 1.5 DL₅₀) mostraron signos de intoxicación. En la dosis baja de 0.5 DL₅₀, se evaluaron todos los tiempos hasta los 1440 minutos; sin embargo, en la dosis de 1 DL₅₀, solo se evaluó hasta los 15 minutos, porque a ese tiempo todos los animales habían muerto, mientras que en la dosis alta de 1.5 DL₅₀, todos los animales habían muerto en los primeros 5 minutos.

4.1.1.1. Signos de envenenamiento observados después de inocular veneno de *Tityus (Atreus) sp.* con 0.5 DL₅₀ (2.1 mg/Kg)

En esta dosis, los signos de envenenamiento que se observaron en el tamizado hipocrático se reportan en la **Tabla 14**, y la mayor frecuencia de ellos se registraron en los tiempos de 5 a 30 minutos, después de los 60 minutos de evaluación, la intensidad con que se presentaron los efectos había disminuido y al cabo de las 3 horas los animales se habían recuperado.

Tabla 14. Frecuencia de signos de envenenamiento en ratones al inocular veneno de *Tityus (Atreus)* sp. con la dosis de 0.5 DL₅₀ (2.1 mg/Kg).

Signos de envenenamiento sistémico	0 min	5 min	15 min	30 min	60 min	180 min	1440 min
Actividad motora (aumentada)	0/5	2/5	3/5	1/5	1/5	0/5	0/5
Actividad motora (disminuida)	0/5	3/5	2/5	3/5	3/5	3/5	0/5
Limpieza de nariz/boca	0/5	4/5	3/5	2/5	2/5	1/5	0/5
Bradipnea	0/5	0/5	0/5	1/5	1/5	0/5	0/5
Taquipnea	0/5	5/5	5/5	4/5	3/5	0/5	0/5
Contracción abdominal	0/5	4/5	5/5	3/5	1/5	0/5	0/5
Erección de la cola (Signo de Straub)	0/5	5/5	5/5	2/5	1/5	0/5	0/5
Piloerección	0/5	4/5	5/5	4/5	1/5	0/5	0/5
Micción	0/5	2/5	1/5	1/5	0/5	0/5	0/5
Defecación	0/5	2/5	2/5	4/5	3/5	2/5	0/5
Palidez	0/5	1/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
Hiperemia	0/5	0/5	1/5	3/5	2/5	0/5	0/5
Hiperactividad	0/5	2/5	2/5	1/5	1/5	0/5	0/5
Hipoactividad	0/5	3/5	3/5	3/5	3/5	3/5	0/5
Ataxia	0/5	3/5	2/5	2/5	2/5	1/5	0/5
Parálisis patas	0/5	3/5	4/5	3/5	3/5	0/5	0/5
Catalepsia	0/5	0/5	1/5	0/5	0/5	0/5	0/5
Analgesia (presión en la base de la cola)	0/5	2/5	2/5	2/5	1/5	0/5	0/5
Pérdida del reflejo corneal	0/5	2/5	4/5	4/5	1/5	0/5	0/5
Pérdida del reflejo pineal	0/5	3/5	5/5	5/5	2/5	0/5	0/5
Reacción de alarma disminuida	0/5	4/5	1/5	0/5	0/5	0/5	0/5
Reacción de alarma aumentada	0/5	1/5	4/5	5/5	2/5	1/5	0/5
Convulsiones tónico clónicas	0/5	1/5	1/5	1/5	1/5	0/5	0/5
Exoftalmia	0/5	3/5	1/5	1/5	1/5	0/5	0/5
Enoftalmia	0/5	2/5	3/5	1/5	1/5	0/5	0/5
Ptosis palpebral	0/5	4/5	5/5	5/5	3/5	0/5	0/5
Lacrimación	0/5	5/5	5/5	3/5	1/5	0/5	0/5
Cromodacriorrea	0/5	2/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
Sialorrea	0/5	5/5	5/5	5/5	1/5	0/5	0/5

Signos de envenenamiento sistémico	0 min	5 min	15 min	30 min	60 min	180 min	1440 min
Agresividad	0/5	2/5	3/5	3/5	1/5	0/5	0/5
Pasividad	0/5	3/5	2/5	2/5	4/5	2/5	0/5
Temerosidad	0/5	3/5	4/5	5/5	4/5	1/5	0/5

Para esta dosis, los resultados de lágrimas y saliva reportados en mm se presentan en la **Tabla 15**, se observó que entre los 5 y 15 minutos hubo una mayor lacrimación, mientras que la sialorrea fue muy intensa desde los 5 hasta los 30 minutos; ambos parámetros se pudieron medir hasta los 60 minutos.

Tabla 15. Resultados en mm de la lacrimación y sialorrea después de la inoculación de veneno de *Tityus (Atreus) sp.* con la dosis de 0.5 DL₅₀ (2.1 mg/Kg).

Signos de envenenamiento sistémico	0 min	5 min	15 min	30 min	60 min	180 min	1440 min
Lacrimación (mm)	0.0	6.9 ± 1.4	5.2 ± 1.6	3.9 ± 1.0	2.5 ± 0.8	0.0	0.0
Sialorrea (mm)	0.0	12.6 ± 1.1	12.8 ± 1.7	10.6 ± 2.0	5.6 ± 0.6	0.0	0.0

Resultados expresados como la media ±DE.

En la **Figura 19**, se muestran algunos de los signos de envenenamiento observados en esta dosis.



a. Lacrimación, sialorrea y respiración abdominal forzada



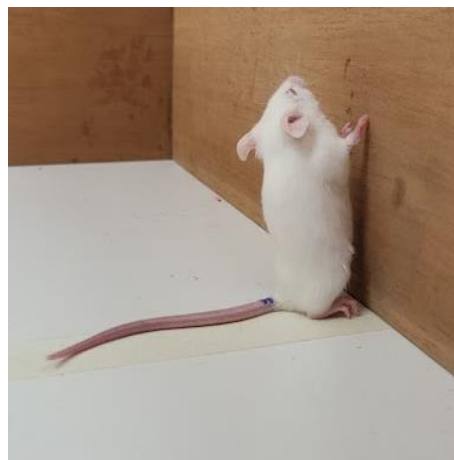
b. Contracción abdominal



c. izq.: exoftalmia; dcha.: ptosis palpebral



d. Parálisis de patas traseras



e. Catalepsia



f. Cola de Straub

Figura 19. Signos de envenenamiento después de inocular veneno de *Tityus (Atreus) sp.* con la dosis de 0.5 DL₅₀.

4.1.1.2. Signos de envenenamiento observados después de inocular veneno de *Tityus* (*Atreus*) sp. con 1 DL₅₀ (4.2 mg/Kg)

En esta dosis, los signos de envenenamiento sistémico que se observaron en el tamizado hipocrático se reportan en la **Tabla 16**; es importante señalar que, para los tiempos de 0 a 5 minutos, la medición es con base a 5 ratones, y en los 15 minutos es con base a 2, porque a los 5 minutos 3 ratones murieron.

Tabla 16. Frecuencia de signos de envenenamiento en ratones al inocular veneno de *Tityus* (*Atreus*) sp. con la dosis de 1 DL₅₀ (4.2 mg/Kg).

Signos de envenenamiento sistémico	0 min	5 min	15 min
Actividad motora (disminuida)	0/5	5/5	2/2
Taquipnea	0/5	5/5	2/2
Respiración abdominal forzada	0/5	5/5	2/2
Contracción abdominal	0/5	5/5	2/2
Erección de la cola (Signo de Straub)	0/5	5/5	2/2
Piloerección	0/5	5/5	2/2
Micción	0/5	5/5	2/2
Defecación	0/5	2/5	2/2
Palidez	0/5	4/5	0/2
Hiperemia	0/5	1/5	2/2
Cianosis	0/5	3/5	1/2
Hipoactividad	0/5	0/5	2/2
Ataxia	0/5	5/5	2/2
Pérdida del reflejo de enderezamiento	0/5	1/5	2/2
Parálisis patas	0/5	5/5	2/2
Analgesia (presión en la base de la cola)	0/5	5/5	2/2
Pérdida del reflejo corneal	0/5	2/5	2/2
Pérdida del reflejo pineal	0/5	5/5	2/2
Reacción de alarma disminuida	0/5	4/5	2/2
Temblores del cuerpo	0/5	0/5	2/2
Convulsiones tónico clónicas	0/5	3/5	2/2
Fasciculaciones	0/5	3/5	1/2
Exoftalmia	0/5	2/5	1/2
Enoftalmia	0/5	3/5	1/2

Signos de envenenamiento sistémico	0 min	5 min	15 min
Ptosis palpebral	0/5	1/5	1/2
Lacrimación	0/5	5/5	2/2
Cromodacriorrea	0/5	4/5	2/2
Salivación	0/5	5/5	2/2
Signo de Robichaud	0/5	0/5	2/2
Pasividad	0/5	5/5	2/2
Sangrado por nariz/boca	0/5	0/5	1/2
Priapismo*	0/3	3/3	1/1
Colpectasia*	0/2	2/2	1/1
Muerte	0/5	3/5	2/2

*Estos resultados fueron evaluados con base a la cantidad de hembras y machos utilizados en el ensayo.

Para esta dosis, los resultados de lágrimas y sialorrea reportados en mm se presentan en la **Tabla 17**; se observó que entre los 5 y 15 minutos hubo una lacrimación y salivación muy intensa.

Tabla 17. Resultados en mm de la lacrimación y sialorrea posterior a la inoculación de veneno de *Tityus (Atreus) sp.* con la dosis de 1 DL₅₀ (4.2 mg/Kg).

Signos de envenenamiento sistémico	0 min	5 min	15 min
Lacrimación (mm)	0.0	5.4 ± 1.3	6.3 ± 1.2
Sialorrea (mm)	0.0	10.8 ± 1.5	11.8 ± 1.6

Resultados expresados como la media ±DE.

En la **Figura 20**, se muestran algunos de los signos de envenenamiento observados en esta dosis intermedia.



a. Priapismo y cianosis



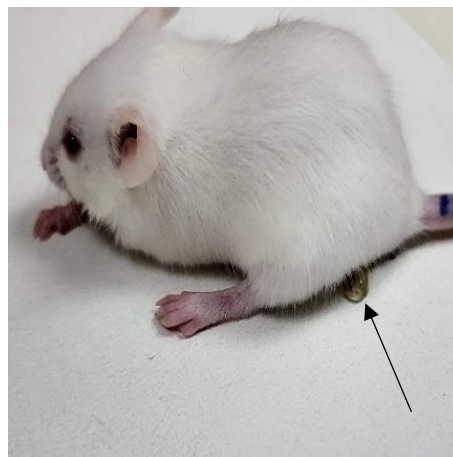
b. Cromodacriorrea y exoftalmia



c. Colpectasia



d. Parálisis de patas y piloerección



e. Heces líquidas



f. Convulsiones y muerte

Figura 20. Signos de envenenamiento después de inocular veneno de *Tityus (Atreus) sp.* con la dosis de 1 DL₅₀.

4.1.1.3. Signos de envenenamiento observados después de inocular veneno de *Tityus (Atreus) sp.* con 1.5 DL₅₀ (6.3 mg/Kg)

Para esta dosis, los signos de envenenamiento sistémico que se observaron en el tamizado hipocrático se reportan en la **Tabla 18**; en esta dosis, solo se logró evaluar hasta los 5 minutos, ya que después de ese tiempo todos los ratones habían muerto, siendo esta dosis totalmente letal.

Tabla 18. Frecuencia de signos de envenenamiento en ratones al inocular veneno de *Tityus (Atreus) sp.* con la dosis de 1.5 DL₅₀ (6.3 mg/Kg).

Signos de envenenamiento sistémico	0 min	5 min
Taquipnea	0/5	5/5
Respiración abdominal forzada	0/5	5/5
Contracción abdominal	0/5	5/5
Erección de la cola (Signo de Straub)	0/5	5/5
Piloerección	0/5	5/5
Micción	0/5	5/5
Defecación	0/5	2/5
Palidez	0/5	4/5
Cianosis	0/5	4/5
Ataxia	0/5	5/5
Pérdida del reflejo de enderezamiento	0/5	5/5
Parálisis patas	0/5	5/5
Analgesia (presión en la base de la cola)	0/5	5/5
Pérdida del reflejo pineal	0/5	5/5
Reacción de alarma disminuida	0/5	4/5
Convulsiones tónico clónicas	0/5	3/5
Exoftalmia	0/5	3/5
Lacrimación	0/5	5/5
Cromodacriorrea	0/5	4/5
Salivación	0/5	5/5
Priapismo*	0/3	3/3
Colpectasia*	0/2	2/2
Muerte	0/5	5/5

*Estos resultados fueron evaluados con base a la cantidad de hembras y machos utilizados en el ensayo.

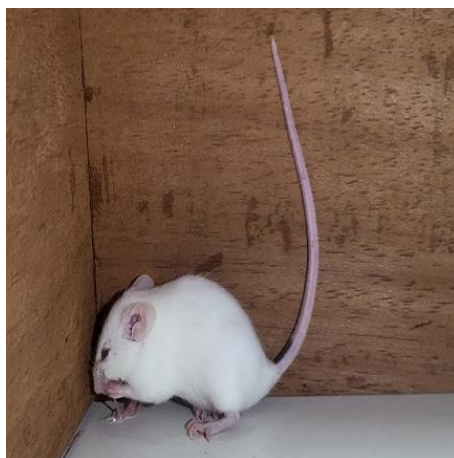
Para esta dosis, los resultados de lágrimas y saliva reportados en mm se presentan en la **Tabla 19**.

Tabla 19. Resultados en mm de la lacrimación y salivación posterior a la inoculación de veneno de *Tityus (Atreus) sp.* con la dosis de 1.5 DL₅₀ (6.3 mg/Kg).

Signos de envenenamiento sistémico	0 min	5 min
Lacrimación (mm)	0.0	3.2 ± 0.7
Salivación (mm)	0.0	6.3 ± 0.5

Resultados expresados como la media ±DE.

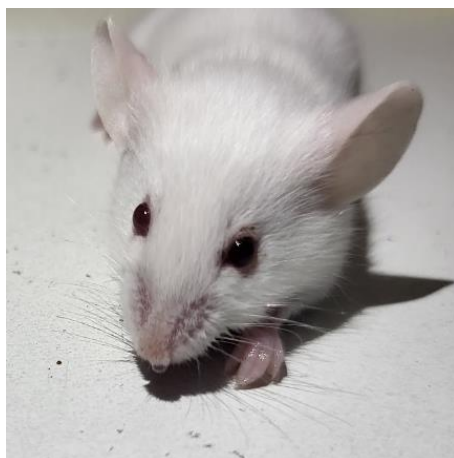
En la **Figura 21**, se muestran algunos de los signos de envenenamiento observados en esta dosis alta.



a. Cola de Straub y sialorrea



b. Parálisis de pata trasera y defecación



c. Exoftalmia y piloerección



d. Micción y muerte

Figura 21. Signos de envenenamiento después de inocular veneno de *Tityus (Atreus) sp.* con la dosis de 1.5 DL₅₀.

4.1.2. Envenenamiento experimental con veneno de escorpión *Tityus (Atreus) championi*

Todos los ratones que fueron inoculados con alguna de las 3 dosis de veneno de *T. championi* (0.5, 1 y 1.5 DL₅₀) mostraron signos de intoxicación. En las dosis baja e intermedia (0.5 y 1 DL₅₀), se evaluaron todos los tiempos hasta los 1440 minutos; sin embargo, en la dosis de 1.5 DL₅₀, solo pudimos realizar la evaluación durante los primeros 5 minutos, ya que a ese tiempo todos los ratones habían muerto.

4.1.2.1. Signos de envenenamiento observados después de inocular veneno de *T. championi* con la dosis 0.5 DL₅₀ (1.45 mg/Kg)

En esta dosis, los signos de envenenamiento que se observaron en el tamizado hipocrático se reportan en la **Tabla 20**, y la mayor frecuencia de ellos se registraron en los tiempos de 5 a 30 minutos, después de los 60 minutos hasta los 180 minutos de evaluación, la intensidad con que se presentaron los efectos había disminuido y para los 1440 minutos los animales se habían recuperado.

Tabla 20. Frecuencia de signos de envenenamiento en ratones al inocular veneno de *T. championi* con la dosis de 0.5 DL₅₀ (1.45 mg/Kg).

Signos de envenenamiento sistémico	0 min	5 min	15 min	30 min	60 min	180 min	1440 min
Actividad motora (aumentada)	0/5	1/5	2/5	2/5	2/5	1/5	0/5
Actividad motora (disminuida)	0/5	4/5	3/5	3/5	3/5	2/5	0/5
Limpieza de nariz/boca	0/5	5/5	5/5	4/5	2/5	0/5	0/5
Taquipnea	0/5	3/5	5/5	5/5	4/5	2/5	0/5
Respiración abdominal forzada	0/5	3/5	3/5	2/5	1/5	0/5	0/5
Contracción abdominal	0/5	3/5	3/5	3/5	2/5	0/5	0/5
Erección de la cola (Signo de Straub)	0/5	3/5	3/5	2/5	0/5	0/5	0/5

Signos de envenenamiento sistémico	0 min	5 min	15 min	30 min	60 min	180 min	1440 min
Piloerección	0/5	3/5	3/5	3/5	0/5	0/5	0/5
Micción	0/5	2/5	1/5	1/5	1/5	1/5	0/5
Defecación	0/5	2/5	5/5	5/5	1/5	0/5	0/5
Hiperemia	0/5	1/5	2/5	3/5	0/5	0/5	0/5
Cianosis	0/5	1/5	1/5	0/5	0/5	0/5	0/5
Hiperactividad	0/5	1/5	2/5	2/5	2/5	1/5	0/5
Hipoactividad	0/5	4/5	3/5	3/5	3/5	2/5	0/5
Ataxia	0/5	3/5	4/5	3/5	0/5	0/5	0/5
Parálisis patas	0/5	5/5	5/5	5/5	2/5	2/5	0/5
Catalepsia	0/5	0/5	3/5	2/5	2/5	0/5	0/5
Analgesia (presión en la base de la cola)	0/5	3/5	2/5	1/5	0/5	0/5	0/5
Pérdida del reflejo corneal	0/5	1/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
Pérdida del reflejo pineal	0/5	4/5	4/5	2/5	2/5	0/5	0/5
Reacción de alarma disminuida	0/5	1/5	2/5	1/5	1/5	0/5	0/5
Reacción de alarma aumentada	0/5	1/5	2/5	4/5	1/5	2/5	0/5
Temblores del cuerpo	0/5	4/5	4/5	4/5	0/5	0/5	0/5
Convulsiones tónico clónicas	0/5	1/5	1/5	1/5	1/5	0/5	0/5
Fasciculaciones	0/5	3/5	1/5	1/5	0/5	0/5	0/5
Exoftalmia	0/5	3/5	3/5	1/5	0/5	0/5	0/5
Ptosis palpebral	0/5	0/5	1/5	0/5	0/5	0/5	0/5
Lacrimación	0/5	5/5	5/5	4/5	2/5	2/5	0/5
Cromodacriorrea	0/5	5/5	3/5	1/5	1/5	1/5	0/5
Salivación	0/5	5/5	5/5	5/5	4/5	2/5	0/5
Priapismo*	0/2	1/2	1/2	1/2	0/2	0/2	0/2
Colpectasia*	0/3	2/3	2/3	2/3	0/3	0/3	0/3
Agresividad	0/5	3/5	3/5	3/5	2/5	1/5	0/5
Pasividad	0/5	3/5	3/5	3/5	3/5	3/5	0/5
Temerosidad	0/5	2/5	2/5	3/5	3/5	3/5	0/5

*Estos resultados fueron evaluados con base a la cantidad de hembras y machos utilizados en el ensayo.

Para esta dosis, los resultados de lágrimas y saliva reportados en mm se presentan en la **Tabla 21**; se observó que entre los 5 y 15 minutos hubo una mayor lacrimación, mientras que la sialorrea fue muy intensa desde los 5 hasta los 30 minutos; ambos parámetros se pudieron medir hasta los 180 minutos.

Tabla 21. Resultados en mm de la lacrimación y sialorrea posterior a la inoculación de veneno de *T. championi* con la dosis de 0.5 DL₅₀ (1.45 mg/Kg).

Signos de envenenamiento sistémico	0 min	5 min	15 min	30 min	60 min	180 min	1440 min
Lacrimación (mm)	0.0	6.8 ± 1.6	4.1 ± 1.3	3.6 ± 1.7	3.3 ± 2.3	3.8 ± 1.1	0.0
Sialorrea (mm)	0.0	10.8 ± 2.5	11.4 ± 1.8	11.1 ± 2.4	6.1 ± 2.8	5.3 ± 2.6	0.0

Resultados expresados como la media ±DE.

En la **Figura 22**, se muestran algunos de los signos de envenenamiento observados en esta dosis.



a. Sialorrea



b. Lacrimación



c. Heces acuosas



d. Contracción abdominal y catalepsia



e. Cromodaciorrea



f. Exoftalmia y piloerección

Figura 22. Signos de envenenamiento después de inocular veneno de *T. championi* con la dosis de 0.5 DL₅₀.

4.1.2.2. Signos de envenenamiento observados después de inocular veneno de *T. championi* con la dosis 1 DL₅₀ (2.9 mg/Kg)

En esta dosis, los signos de envenenamiento que se observaron en el tamizado hipocrático se reportan en la **Tabla 22**, y la mayor frecuencia de ellos se registraron en los tiempos de 5 a 30 minutos, después de los 60 minutos hasta los 180 minutos de evaluación, la intensidad con que se presentaron los efectos había disminuido, es importante señalar que para los tiempos de 0 a 5 minutos la medición es con base a 5 ratones, de los 15 a los 60 minutos es con base a 3, porque 2 ratones murieron a los 5 minutos, a los 180 minutos es con base a 2, porque a los 60 minutos murió un ratón y para los 1440 minutos es con base a 1, porque a los 180 minutos murió otro; finalmente, solo un ratón sobrevivió las 24 horas a esta dosis evaluada y para ese tiempo se había recuperado.

Tabla 22. Frecuencia de signos de envenenamiento en ratones al inocular veneno de *T. championi* con la dosis de 1 DL₅₀ (2.9 mg/Kg).

Signos de envenenamiento sistémico	0 min	5 min	15 Min	30 min	60 min	180 min	1440 min
Actividad motora (disminuida)	0/5	5/5	3/3	3/3	3/3	2/2	0/1
Bradipnea	0/5	1/5	2/3	2/3	2/3	1/2	0/1
Taquipnea	0/5	4/5	1/3	1/3	1/3	1/2	0/1
Respiración abdominal forzada	0/5	3/5	3/3	3/3	2/3	0/2	0/1
Contracción abdominal	0/5	3/5	3/3	3/3	3/3	1/2	0/1
Erección de la cola (Signo de Straub)	0/5	5/5	2/3	1/3	1/3	0/2	0/1
Piloerección	0/5	3/5	2/3	2/3	2/3	1/2	0/1
Micción	0/5	1/5	1/3	1/3	0/3	0/2	0/1
Defecación	0/5	0/5	2/3	3/3	2/3	0/2	0/1
Palidez	0/5	2/5	0/3	0/3	0/3	0/2	0/1
Hiperemia	0/5	0/5	3/3	3/3	2/3	1/2	0/1
Cianosis	0/5	1/5	2/3	2/3	1/3	0/2	0/1
Hiperactividad	0/5	1/5	0/3	0/3	0/3	0/2	0/1
Hipoactividad	0/5	2/5	3/3	3/3	3/3	1/2	0/1
Ataxia	0/5	3/5	2/3	2/3	2/3	1/2	0/1
Pérdida del reflejo de enderezamiento	0/5	2/5	0/3	0/3	1/3	1/2	0/1

Signos de envenenamiento sistémico	0 min	5 min	15 Min	30 min	60 min	180 min	1440 min
Parálisis patas	0/5	4/5	3/3	3/3	2/3	1/2	0/1
Analgesia (presión en la base de la cola)	0/5	2/5	2/3	3/3	2/3	1/2	0/1
Pérdida del reflejo corneal	0/5	1/5	0/3	0/3	1/3	1/2	0/1
Pérdida del reflejo pineal	0/5	2/5	3/3	3/3	1/3	1/2	0/1
Temblores del cuerpo	0/5	5/5	3/3	2/3	2/3	1/2	0/1
Convulsiones tónico clónicas	0/5	3/5	0/3	1/3	1/3	0/2	0/1
Fasciculaciones	0/5	2/5	1/3	1/3	1/3	1/2	0/1
Exoftalmia	0/5	1/5	2/3	1/3	2/3	0/2	0/1
Enoftalmia	0/5	0/5	0/3	0/3	0/3	0/2	0/1
Ptoxis palpebral	0/5	0/5	0/3	0/3	0/3	0/2	0/1
Lacrimación	0/5	5/5	3/3	3/3	2/3	0/2	0/1
Cromodacriorrea	0/5	4/5	1/3	1/3	1/3	0/2	0/1
Salivación	0/5	5/5	3/3	3/3	3/3	0/2	0/1
Priapismo*	0/2	1/2	2/2	2/2	1/2	0/2	0/1
Pasividad	0/5	3/5	3/3	3/3	3/3	2/2	0/1
Muerte	0/5	2/5	0/3	0/3	1/3	1/2	0/1

*Estos resultados fueron evaluados con base a la cantidad de hembras y machos utilizados en el ensayo.

Para esta dosis, los resultados de lágrimas y saliva reportados en mm se presentan en la **Tabla 23** y se observó que la lacrimación se mantuvo con la misma intensidad desde los 5 a los 60 minutos de evaluación, mientras que la sialorrea tuvo un aumento intenso a los 15 minutos, luego fue descendiendo y para los 180 minutos no se mostraba efecto de salivación.

Tabla 23. Resultados en mm de la lacrimación y sialorrea posterior a la inoculación de veneno de *T. championi* con la dosis de 1 DL₅₀ (2.9 mg/Kg).

Signos de envenenamiento sistémico	0 min	5 min	15 min	30 min	60 min	180 min	1440 min
Lacrimación (mm)	0.0	5.1 ± 1.4	5.8 ± 2.6	5.5 ± 2.0	5.0 ± 3.5	0.0	0.0
Sialorrea (mm)	0.0	7.9 ± 1.8	12.6 ± 0.7	10.9 ± 1.7	7.3 ± 1.9	0.0	0.0

Resultados expresados como la media ±DE.

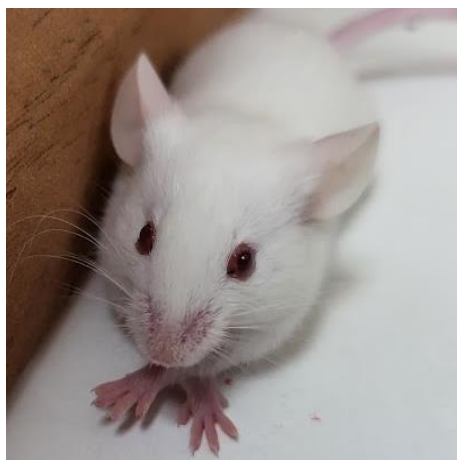
En la **Figura 23**, se muestran algunos de los signos de envenenamiento que se observaron con mayor intensidad durante el proceso de evaluación de los animales al administrarles esta dosis letal de 1 DL₅₀.



a. Izq.: priapismo en ratón intoxicado; der.:
ratón control



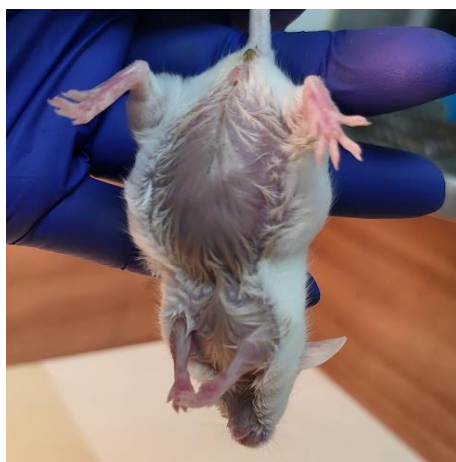
b. Heces mucosas



c. Cromodacriorrea



d. Parálisis de patas y piloerección



e. Inflamación del abdomen



f. Respiración abdominal forzada

Figura 23. Signos de envenenamiento después de inocular veneno de *T. championi* con la dosis de 1 DL₅₀.

4.1.2.3. Signos de envenenamiento observados después de inocular veneno de *T. championi* con 1.5 DL₅₀ (4.35 mg/Kg)

Para esta dosis, los signos de envenenamiento sistémico que se observaron en el tamizado hipocrático se reportan en la **Tabla 24**, en esta dosis, sólo se logró evaluar hasta los 5 minutos, ya que después de ese tiempo todos los ratones habían muerto, incluso algunos murieron antes de los 5 minutos, siendo esta dosis sumamente letal.

Tabla 24. Frecuencia de signos de envenenamiento en ratones al inocular veneno de *T. championi* con la dosis de 1.5 DL₅₀ (4.35 mg/Kg).

Signos de envenenamiento sistémico	0 min	5 min
Taquipnea	0/5	5/5
Respiración abdominal forzada	0/5	5/5
Contracción abdominal	0/5	5/5
Erección de la cola (Signo de Straub)	0/5	5/5
Piloerección	0/5	5/5
Micción	0/5	5/5
Defecación	0/5	2/5
Palidez	0/5	4/5
Cianosis	0/5	4/5
Ataxia	0/5	5/5
Pérdida del reflejo de enderezamiento	0/5	5/5
Parálisis patas	0/5	5/5
Analgesia (presión en la base de la cola)	0/5	5/5
Pérdida del reflejo pineal	0/5	5/5
Convulsiones tónico clónicas	0/5	3/5
Exoftalmia	0/5	3/5
Lacrimación	0/5	5/5
Cromodacriorrea	0/5	4/5
Salivación	0/5	5/5
Muerte	0/5	5/5

Para esta dosis, los resultados de lágrimas y saliva reportados en mm se presentan en la **Tabla 25**.

Tabla 25. Resultados en mm de la lacrimación y salivación posterior a la inoculación de veneno de *T. championi* con la dosis de 1.5 DL₅₀ (4.35 mg/Kg).

Signos de envenenamiento sistémico	0 min	5 min
Lacrimación (mm)	0.0	4.3 ± 0.5
Salivación (mm)	0.0	7.3 ± 0.8

Resultados expresados como la media ±DE.

En la **Figura 24**, se muestran algunos de los signos de envenenamiento observados en esta dosis alta.



a. Exoftalmia y piloerección



b. Catalepsia y presencia de heces



c. Contracción abdominal y cola de Straub



d. Muerte

Figura 24. Signos de envenenamiento después de inocular veneno de *T. championi* con la dosis de 1.5 DL₅₀

4.1.3. Envenenamiento experimental con veneno de escorpión *Tityus (Atreus) festae*

Todos los ratones que fueron inoculados con alguna de las 3 dosis de veneno de *T. festae* (0.5, 1 y 1.5 DL₅₀) mostraron signos de intoxicación. En las dosis baja e intermedia (0.5 y 1 DL₅₀), se evaluaron todos los tiempos hasta los 1440 minutos; sin embargo, en la dosis de 1.5 DL₅₀, solo se evaluó hasta los 15 minutos, porque a ese tiempo todos los animales habían muerto.

4.1.3.1. Signos de envenenamiento observados después de inocular veneno de *T. festae* con 0.5 DL₅₀ (2.45 mg/Kg)

En esta dosis, los signos de envenenamiento que se observaron en el tamizado hipocrático se reportan en la **Tabla 26**, y la mayor frecuencia de ellos se registraron en los tiempos de 5 a 30 minutos, después de los 60 minutos hasta los 180 minutos de evaluación, la intensidad con que se presentaron los efectos había disminuido y para los 1440 minutos los animales se habían recuperado. Es importante recalcar que para los tiempos de 0 a 180 minutos la medición es con base a 5 ratones, y para los 1440 minutos es con base a 4, ya que a los 180 minutos uno de los ratones murió.

Tabla 26. Frecuencia de signos de envenenamiento en ratones al inocular veneno de *T. festae* con la dosis de 0.5 DL₅₀ (2.45 mg/Kg).

Signos de envenenamiento sistémico	0 min	5 min	15 min	30 min	60 min	180 min	1440 min
Actividad motora (aumentada)	0/5	1/5	2/5	2/5	2/5	1/5	0/4
Actividad motora (disminuida)	0/5	4/5	3/5	3/5	3/5	2/5	0/4
Limpieza de nariz/boca	0/5	2/5	2/5	2/5	1/5	2/5	2/4
Bradipnea	0/5	0/5	0/5	1/5	1/5	0/5	0/4
Taquipnea	0/5	4/5	4/5	4/5	3/5	2/5	0/4
Respiración abdominal forzada	0/5	4/5	4/5	2/5	1/5	1/5	0/4
Contracción abdominal	0/5	3/5	3/5	3/5	1/5	0/5	0/4

Signos de envenenamiento sistémico	0 min	5 min	15 min	30 min	60 min	180 min	1440 min
Erección de la cola (Signo de Straub)	0/5	3/5	1/5	1/5	1/5	0/5	0/4
Piloerección	0/5	3/5	4/5	3/5	2/5	2/5	0/4
Micción	0/5	0/5	0/5	1/5	2/5	2/5	0/4
Defecación	0/5	5/5	5/5	5/5	5/5	3/5	0/4
Hiperemia	0/5	1/5	2/5	1/5	0/5	0/5	0/4
Cianosis	0/5	0/5	1/5	1/5	0/5	0/5	0/4
Hiperactividad	0/5	1/5	1/5	1/5	1/5	1/5	2/4
Hipoactividad	0/5	4/5	4/5	4/5	3/5	2/5	0/4
Ataxia	0/5	4/5	3/5	3/5	2/5	0/5	0/4
Parálisis patas	0/5	3/5	4/5	3/5	2/5	1/5	0/4
Catalepsia	0/5	3/5	4/5	1/5	0/5	0/5	0/5
Analgesia (presión en la base de la cola)	0/5	4/5	4/5	4/5	2/5	1/5	0/4
Pérdida del Reflejo pineal	0/5	2/5	4/5	4/5	3/5	2/5	1/4
Reacción de alarma disminuida	0/5	3/5	3/5	1/5	1/5	1/5	0/4
Convulsiones tónicas-clónicas	0/5	2/5	2/5	2/5	1/5	1/5	0/4
Fasciculaciones	0/5	3/5	2/5	1/5	1/5	1/5	0/4
Exoftalmia	0/5	1/5	2/5	1/5	0/5	0/5	0/4
Lacrimación	0/5	5/5	4/5	4/5	2/5	1/5	0/4
Cromodacriorrea	0/5	4/5	3/5	1/5	2/5	1/5	0/4
Salivación	0/5	3/5	3/5	3/5	3/5	0/5	0/4
Priapismo*	0/3	0/3	1/5	1/5	0/3	0/3	0/2
Colpectasia*	0/2	0/2	1/2	1/2	0/2	0/2	0/2
Signo de Robichaud	0/5	2/5	2/5	1/5	0/5	0/5	0/4
Pasividad	0/5	3/5	4/5	4/5	4/5	4/5	2/4
Temerosidad	0/5	2/5	2/5	2/5	2/5	1/5	0/4
Muerte	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	1/5	0/4

*Estos resultados fueron evaluados con base a la cantidad de hembras y machos utilizados en el ensayo.

Para esta dosis, los resultados de lágrimas y saliva reportados en mm se presentan en la **Tabla 27** y se observó que entre los 5 y 30 minutos la lacrimación fue intensa, mientras que la sialorrea tuvo un aumento muy marcado a los 30 minutos; sin embargo, para los 180 minutos no se mostraba efecto de lágrimas ni saliva.

Tabla 27. Resultados en mm de la lacrimación y sialorrea posterior a la inoculación de veneno de *T. festae* a la dosis de 0.5 DL₅₀ (2.45 mg/Kg).

Signos de envenenamiento sistémico	0 min	5 min	15 min	30 min	60 min	180 min	1440 min
Lacrimación (mm)	0.0	7.6 ± 1.3	4.5 ± 1.6	4.9 ± 0.9	3.3 ± 0.9	0.0	0.0
Sialorrea (mm)	0.0	11.6 ± 1.7	11.0 ± 0.9	13.4 ± 2.3	9.3 ± 0.4	0.0	0.0

Resultados expresados como la media ±DE.

En la **Figura 25**, se muestran algunos de los signos de envenenamiento observados con mayor intensidad durante el proceso de evaluación de esta dosis.



a. izq.: colpectasia en ratón intoxicado; dcha.:
ratón control



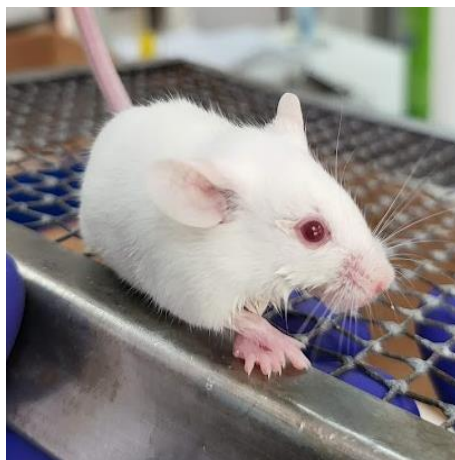
b. Parálisis de patas y enoftalmia



d. Catalepsia y contracción abdominal



e. Presencia de heces pastosas



g. Exoftalmia



h. Lacrimación y sialorrea

Figura 25. Signos de envenenamiento después de inocular veneno de *T. festae* con la dosis de 0.5 DL₅₀

4.1.3.2. Signos de envenenamiento observados después de inocular veneno de *T. festae* con 1 DL₅₀ (4.9 mg/Kg)

En esta dosis, los signos de envenenamiento que se observaron en el tamizado hipocrático se reportan en la **Tabla 28**; es importante señalar que para los tiempos de 0 a 5 minutos la medición es con base a 5 ratones, a los 15 es con base a 4, porque 1 ratón murió a 5 minutos, de los 30 a los 1440 minutos es con base a 1, porque a los 15 minutos murieron 3 ratones.

Tabla 28. Frecuencia de signos de envenenamiento en ratones al inocular veneno de *T. festae* con la dosis de 1 DL₅₀ (4.9 mg/Kg).

Signos de envenenamiento sistémico	0 min	5 min	15 min	30 min	60 min	180 min	1440 min
Actividad motora (disminuida)	0/5	5/5	4/4	1/1	1/1	1/1	0/1
Taquipnea	0/5	4/5	3/4	1/1	1/1	1/1	0/1
Respiración abdominal forzada	0/5	5/5	4/4	1/1	1/1	1/1	0/1
Contracción abdominal	0/5	5/5	4/4	1/1	1/1	0/1	0/1
Erección de la cola (Signo de Straub)	0/5	5/5	2/4	1/1	0/1	0/1	0/1
Piloerección	0/5	4/5	4/4	1/1	1/1	0/1	0/1
Micción	0/5	0/5	1/4	1/1	1/1	1/1	0/1
Defecación	0/5	0/5	0/4	1/1	1/1	1/1	0/1
Hiperemia	0/5	3/5	2/4	1/1	1/1	1/1	0/1
Cianosis	0/5	2/5	2/4	1/1	1/1	0/1	0/1
Hipoactividad	0/5	3/5	4/4	1/1	1/1	1/1	0/1
Ataxia	0/5	5/5	4/4	1/1	1/1	1/1	0/1
Pérdida del reflejo de enderezamiento	0/5	3/5	2/4	0/1	1/1	0/1	0/1
Parálisis de patas	0/5	5/5	4/4	1/1	1/1	1/1	0/1
Analgesia (presión en la base de la cola)	0/5	5/5	4/4	1/1	1/1	1/1	0/1
Pérdida del Reflejo corneal	0/5	4/5	3/4	1/1	1/1	1/1	0/1
Pérdida del Reflejo pineal	0/5	4/5	4/4	1/1	1/1	0/1	0/1
Reacción de alarma disminuida	0/5	4/5	4/4	1/1	2/1	1/1	0/1

Signos de envenenamiento sistémico	0 min	5 min	15 min	30 min	60 min	180 min	1440 min
Temblores del cuerpo	0/5	3/5	2/4	1/1	0/1	0/1	0/1
Convulsiones tónico clónicas	0/5	5/5	2/4	1/1	1/1	0/1	0/1
Fasciculaciones	0/5	4/5	3/4	1/1	1/1	0/1	0/1
Exoftalmia	0/5	3/5	3/4	1/1	0/1	0/1	0/1
Lacrimación	0/5	4/5	2/4	0/1	0/1	0/1	0/1
Cromodacriorrea	0/5	3/5	2/4	1/1	1/1	1/1	0/1
Salivación	0/5	5/5	3/4	1/1	1/1	0/1	0/1
Priapismo*	0/2	2/2	2/2	1/1	1/1	0/1	0/1
Colpectasia*	0/3	2/3	2/2	0/0	0/0	0/0	0/0
Pasividad	0/5	4/5	4/4	1/1	1/1	1/1	0/1
Sangrado por nariz/boca	0/5	1/5	1/4	0/1	0/1	0/1	0/1
Muerte	0/5	1/5	3/4	0/1	0/1	0/1	0/1

*Estos resultados fueron evaluados con base a la cantidad de hembras y machos utilizados en el ensayo.

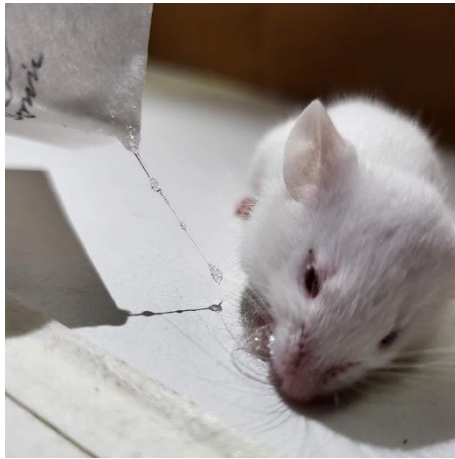
Para esta dosis, los resultados de lágrimas y saliva reportados en mm se presentan en la **Tabla 29** y se observó que estos parámetros se mantuvieron con la misma intensidad desde los 5 a los 180 minutos de evaluación.

Tabla 29. Resultados en mm de la lacrimación y salivación posterior a la inoculación de veneno de *T. festae* con la dosis 1 DL₅₀ (4.9 mg/Kg).

Signos de envenenamiento sistémico	0 min	5 min	15 min	30 min	60 min	180 min	1440 min
Lacrimación (mm)	0.0	4.9 ± 0.6	5.3 ± 1.5	4.7	4.2	6.5	0.0
Salivación (mm)	0.0	7.6 ± 2.1	10.6 ± 0.5	12.1	8.5	5.75	0.0

Resultados expresados como la media ±DE.

En la **Figura 26**, se muestran algunos de los signos de envenenamiento observados en esta dosis intermedia.



a. Sialorrea



b. Erección de la cola



c. Heces pastosas e inflamación de vagina (colpocystitis)



d. Cromodacriorrea y lacrimación



e. Hiperemia en orejas y piloerección



f. Convulsiones y muerte

Figura 26. Signos de envenenamiento después de inocular veneno de *T. festae* con la dosis de 1 DL₅₀.

4.1.3.3. Signos de envenenamiento observados después de inocular veneno de *T. festae* con 1.5 DL₅₀ (7.35 mg/Kg)

A esta dosis, los signos de envenenamiento sistémico que se observaron en el tamizado hipocrático se reportan en la **Tabla 30**; es importante señalar que para los tiempos de 0 a 5 minutos la medición es con base a 5 ratones, y en los 15 minutos es con base a 1, porque a los 5 minutos 4 ratones murieron.

Tabla 30. Frecuencia de signos de envenenamiento en ratones al inocular veneno de *T. festae* con la dosis de 1.5 DL₅₀ (7.35 mg/Kg).

Signos de envenenamiento sistémico	0 min	5 min	15 min
Actividad motora (disminuida)	0/5	5/5	1/1
Taquipnea	0/5	5/5	1/1
Respiración abdominal forzada	0/5	3/5	1/1
Contracción abdominal	0/5	2/5	1/1
Erección de la cola (Signo de Straub)	0/5	4/5	1/1
Piloerección	0/5	2/5	1/1
Micción	0/5	2/5	0/1
Palidez	0/5	1/5	0/1
Hiperemia	0/5	2/5	1/1
Cianosis	0/5	1/5	1/1
Hiperactividad	0/5	3/5	1/1
Hipoactividad	0/5	2/5	1/1
Ataxia	0/5	5/5	1/1
Pérdida del reflejo de enderezamiento	0/5	5/5	1/1
Parálisis Patas	0/5	3/5	1/1
Analgesia (presión en la base de la cola)	0/5	3/5	1/1
Pérdida del Reflejo corneal	0/5	2/5	1/1
Pérdida del Reflejo pineal	0/5	3/5	1/1
Temblores del cuerpo	0/5	2/5	1/1
Convulsiones tónico clónicas	0/5	5/5	1/1
Fasciculaciones	0/5	3/5	1/1
Exoftalmia	0/5	1/5	1/1
Lacrimación	0/5	3/5	1/1
Cromodacriorrea	0/5	2/5	1/1
Salivación	0/5	3/5	1/1
Priapismo*	0/3	2/3	1/1

Signos de envenenamiento sistémico	0 min	5 min	15 min
Colpectasia*	0/2	1/2	0/0
Pasividad	0/5	2/5	1/1
Muerte	0/5	4/5	1/1

*Estos resultados fueron evaluados con base a la cantidad de hembras y machos utilizados en el ensayo.

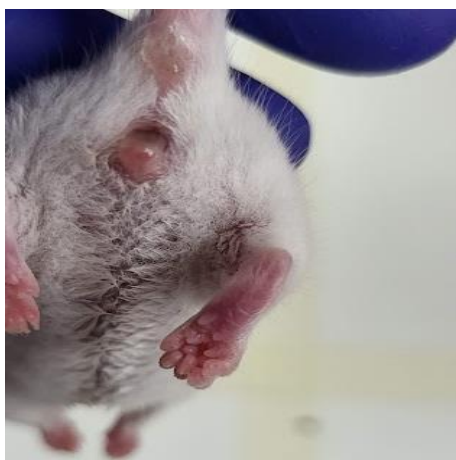
Para esta dosis, los resultados de lágrimas y saliva reportados en mm se presentan en la **Tabla 31**.

Tabla 31. Resultados en mm de la lacrimación y salivación posterior a la inoculación de veneno de *T. festae* a la dosis de 1.5 DL₅₀ (7.35 mg/Kg).

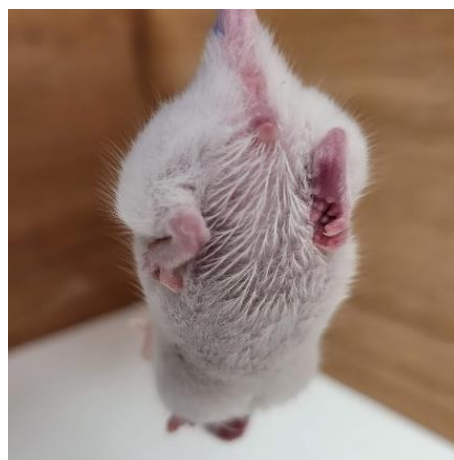
Signos de envenenamiento sistémico	0 min	5 min	15 min
Lacrimación (mm)	0.0	3.7 ± 0.8	4.5
Salivación (mm)	0.0	7.0 ± 2.3	8.4

Resultados expresados como la media ±DE.

En la **Figura 27**, se muestran algunos de los signos de envenenamiento observados en esta dosis alta.



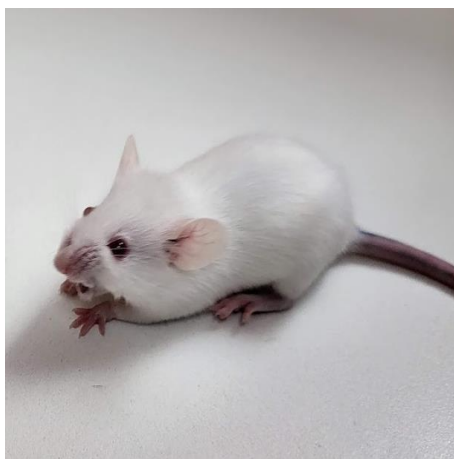
a. Colpectasia



b. Parálisis de pata trasera



c. Piloerección



d. Respiración abdominal forzada



e. Hiperemia en orejas



f. Exoftalmia

Figura 27. Signos de envenenamiento después de inocular veneno de *T. festae* con la dosis de 1.5 DL₅₀.

4.1.4. Envenenamiento experimental con veneno de escorpión *Centruroides bicolor*

Todos los ratones que fueron inoculados con alguna de las 3 dosis de veneno de *C. bicolor* (0.5, 1 y 1.5 DL₅₀) mostraron signos de intoxicación y se pudieron evaluar todos los tiempos hasta los 1440 minutos.

4.1.4.1. Signos de envenenamiento observados después de inocular veneno de *C. bicolor* con la dosis 0.5 DL₅₀ (1.7 mg/Kg)

En esta dosis, los signos de envenenamiento que se observaron en el tamizado hipocrático se reportan en la **Tabla 32**, y la mayor frecuencia de ellos se registraron en los tiempos de 5 a 30 minutos, después de los 60 minutos hasta los 180 minutos de evaluación, la intensidad con que se presentaron los efectos era más baja y para los 1440 minutos los animales se habían recuperado.

Tabla 32. Frecuencia de signos de envenenamiento en ratones al inocular veneno de *C. bicolor* con la dosis de 0.5 DL₅₀ (1.7 mg/Kg).

Signos de envenenamiento sistémico	0 min	5 min	15 min	30 min	60 min	180 min	1440 min
Actividad motora (aumentada)	0/5	1/5	2/5	3/5	4/5	3/5	0/5
Actividad motora (disminuida)	0/5	4/5	3/5	2/5	0/5	0/5	0/5
Limpieza de nariz/boca	0/5	3/5	4/5	4/5	2/5	1/5	0/5
Limpieza del cuerpo	0/5	1/5	1/5	2/5	0/5	0/5	0/5
Taquipnea	0/5	0/5	4/5	5/5	3/5	0/5	0/5
Contracción abdominal	0/5	0/5	1/5	3/5	1/5	0/5	0/5
Erección de la cola (Signo de Straub)	0/5	4/5	5/5	2/5	0/5	0/5	0/5
Piloerección	0/5	4/5	5/5	4/5	3/5	1/5	0/5
Micción	0/5	2/5	2/5	1/5	1/5	0/5	0/5
Defecación	0/5	3/5	4/5	4/5	3/5	1/5	0/5
Hiperactividad	0/5	0/5	2/5	3/5	4/5	3/5	0/5
Hipoactividad	0/5	4/5	3/5	2/5	0/5	0/5	0/5

Signos de envenenamiento sistémico	0 min	5 min	15 min	30 min	60 min	180 min	1440 min
Parálisis de patas	0/5	1/5	2/5	2/5	0/5	0/5	0/5
Catalepsia	0/5	0/5	3/5	2/5	0/5	0/5	0/5
Analgesia (presión en la base de la cola)	0/5	2/5	2/5	1/5	0/5	0/5	0/5
Pérdida del reflejo pineal	0/5	3/5	5/5	5/5	2/5	0/5	0/5
Reacción de alarma aumentada	0/5	1/5	3/5	3/5	2/5	2/5	0/5
Lacrimación	0/5	2/5	4/5	3/5	0/5	0/5	0/5
Salivación	0/5	2/5	2/5	3/5	1/5	0/5	0/5
Agresividad	0/5	0/5	1/5	3/5	3/5	2/5	0/5
Pasividad	0/5	0/5	2/5	1/5	1/5	1/5	0/5
Temerosidad	0/5	1/5	3/5	2/5	1/5	0/5	0/5

Para esta dosis, los resultados de lágrimas y saliva reportados en mm se presentan en la **Tabla 33**; se observó que entre los 5 y 15 minutos la lacrimación fue intensa y se presentó hasta los 30 minutos, mientras que la sialorrea tuvo un aumento muy marcado a los 30 minutos; sin embargo, para los 180 minutos no se mostraba efecto de saliva.

Tabla 33. Resultados en mm de la lacrimación y sialorrea posterior a la inoculación de veneno de *C. bicolor* con la dosis de 0.5 DL₅₀ (1.7 mg/Kg).

Signos de envenenamiento sistémico	0 min	5 min	15 min	30 min	60 min	180 min	1440 min
Lacrimación (mm)	0.0	4.2 ± 1.4	5.2 ± 0.4	2.1 ± 1.0	0.0	0.0	0.0
Sialorrea (mm)	0.0	7.6 ± 1.3	8.0 ± 1.4	10.6 ± 2.0	4.3	0.0	0.0

Resultados expresados como la media ±DE.

En la **Figura 28**, se muestran algunos de los signos de envenenamiento observados en esta dosis baja.



a. Lacrimación



b. Piloerección



c. Limpieza de nariz boca y catalepsia



d. Sialorrea



e. Reacción de alarma aumentada e hiperactividad

Figura 28. Signos de envenenamiento después de inocular veneno de *C. bicolor* a la dosis de 0.5 DL₅₀.

4.1.4.2. Signos de envenenamiento observados después de inocular veneno de *C. bicolor* con 1 DL₅₀ (3.4 mg/Kg)

En esta dosis, los signos de envenenamiento que se observaron en el tamizado hipocrático se reportan en la **Tabla 34** y la mayor frecuencia de ellos se registraron en los tiempos de 5 a 30 minutos, es importante señalar que para los tiempos de 0 a 30 minutos la medición es con base a 5 ratones, a los 60 minutos es con base a 3, porque 2 ratones murieron a los 30 minutos, de los 180 a los 1440 minutos es con base a 2, porque a los 60 minutos murió un ratón.

Tabla 34. Frecuencia de signos de envenenamiento en ratones al inocular veneno de *C. bicolor* con la dosis de 1 DL₅₀ (3.4 mg/Kg).

Signos de envenenamiento sistémico	0 min	5 min	15 min	30 min	60 min	180 min	1440 min
Actividad motora (disminuida)	0/5	5/5	5/5	5/5	3/3	2/2	0/2
Limpieza de nariz/boca	0/5	3/5	5/5	1/5	1/3	0/5	0/2
Ataxia	0/5	5/5	4/5	2/5	2/3	1/2	0/2
Taquipnea	0/5	5/5	5/5	3/5	0/3	0/2	0/2
Respiración abdominal forzada	0/5	5/5	5/5	1/5	1/3	0/2	0/2
Contracción abdominal	0/5	1/5	5/5	5/5	2/3	0/2	0/2
Erección de la cola (Signo de Straub)	0/5	5/5	5/5	1/5	0/3	0/2	0/2
Piloerección	0/5	5/5	5/5	5/5	2/3	1/2	0/2
Micción	0/5	2/5	2/5	1/5	1/3	1/2	0/2
Defecación	0/5	1/5	3/5	2/5	1/3	1/2	0/2
Hipoactividad	0/5	5/5	5/5	5/5	3/3	2/2	0/2
Pérdida del reflejo de enderezamiento	0/5	1/5	0/5	1/5	2/3	0/2	0/2
Parálisis de patas	0/5	2/5	4/5	3/5	2/3	1/2	0/2
Catalepsia	0/5	2/5	3/5	2/5	0/3	0/5	0/5
Analgesia (presión en la base de la cola)	0/5	5/5	5/5	3/5	1/3	0/2	0/2
Pérdida del Reflejo pineal	0/5	5/5	3/5	3/5	2/3	1/2	0/2

Signos de envenenamiento sistémico	0 min	5 min	15 min	30 min	60 min	180 min	1440 min
Reacción de alarma aumentada	0/5	1/5	2/5	3/5	1/3	0/2	0/2
Convulsiones tónico clónicas	0/5	1/5	1/5	2/5	2/3	0/2	0/2
Fasciculaciones	0/5	2/5	2/5	1/5	0/3	0/2	0/2
Exoftalmia	0/5	0/5	1/5	1/5	1/3	0/2	0/2
Enoftalmia	0/5	3/5	4/5	2/5	1/3	0/2	0/2
Ptois palpebral	0/5	1/5	3/5	2/5	1/3	0/2	0/2
Lacrimación	0/5	5/5	5/5	3/5	0/3	0/2	0/2
Cromodacriorrea	0/5	2/5	1/5	3/5	0/3	1/2	0/2
Salivación	0/5	5/5	5/5	3/5	2/3	1/2	0/2
Pasividad	0/5	5/5	5/5	4/5	2/3	2/2	0/2
Priapismo*	0/2	0/2	1/2	1/2	0/1	0/1	0/1
Colpectasia*	0/3	0/3	1/3	1/3	0/2	0/1	0/1
Muerte	0/5	0/5	0/5	2/5	1/3	0/2	0/2

*Estos resultados fueron evaluados con base a la cantidad de hembras y machos utilizados en el ensayo.

Para esta dosis, los resultados de lágrimas y saliva reportados en mm se presentan en la **Tabla 35**; se observó que entre los 5 y 30 minutos la lacrimación tuvo una intensidad fuerte y se presentó hasta los 60 minutos, mientras que la sialorrea tuvo un aumento muy marcado a los 30 minutos y se mantuvo presente el efecto hasta los 180 minutos.

Tabla 35. Resultados en mm de la lacrimación y sialorrea posterior a la inoculación de veneno de *C. bicolor* con la dosis de 1 DL₅₀ (3.4 mg/Kg).

Signos de envenenamiento sistémico	0 min	5 min	15 min	30 min	60 min	180 min	1440min
Lacrimación (mm)	0.0	4.4 ± 1.0	7.3 ± 0.6	5.7 ± 1.9	3.4 ± 0.8	0.0	0.0
Sialorrea (mm)	0.0	8.8 ± 2.5	9.7 ± 1.4	10.9 ± 0.8	6.4 ± 1.0	0.9	0.0

Resultados expresados como la media ±DE.

En la **Figura 29**, se presentan algunos de los signos de envenenamiento observados con mayor intensidad en el envenenamiento por *C. bicolor* a esta dosis intermedia.



a. Respiración abdominal forzada



b. Piloerección, parálisis de patas y presencia de heces



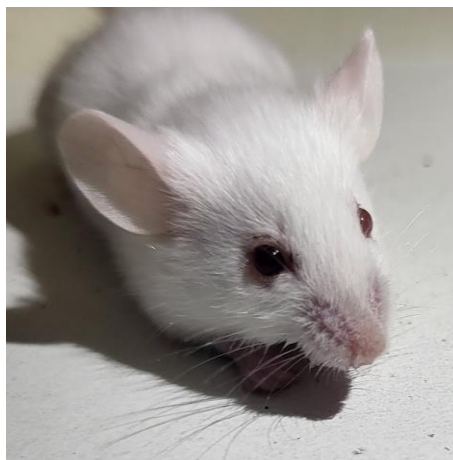
c. Enoftalmia



d. Sialorrea y piloerección



e. Catalepsia



f. Exoftalmia

Figura 29. Signos de envenenamiento después de inocular veneno de *C. bicolor* con la dosis de 1 DL₅₀

4.1.4.3. Signos de envenenamiento observados después de inocular veneno de *C. bicolor* con 1.5 DL₅₀ (5.1 mg/Kg)

Para esta dosis, los signos de envenenamiento que se observaron en el tamizado hipocrático se reportan en la **Tabla 36** y la mayor frecuencia de ellos se registraron en los tiempos de 5 a 30 minutos, es importante señalar que para los tiempos de 0 a 5 minutos la medición es con base a 5 ratones, a los 15 minutos es con base a 3, porque 2 ratones murieron a los 5 minutos, a los 30 es con base a 2, porque 1 ratón murió a los 15 minutos, de los 60 a los 1440 minutos es con base a 1, porque a los 30 minutos murió 1 ratón.

Tabla 36. Frecuencia de signos de envenenamiento en ratones al inocular veneno de *C. bicolor* con la dosis de 1.5 DL₅₀ (5.1 mg/Kg).

Signos de envenenamiento sistémico	0 min	5 min	15 min	30 min	60 min	180 min	1440 min
Actividad motora (disminuida)	0/5	5/5	3/3	2/2	1/1	1/1	0/1
Limpieza de nariz/boca	0/5	1/5	2/3	0/2	0/1	0/1	0/1
Bradipnea	0/5	0/5	0/3	1/2	1/1	1/1	0/1
Taquipnea	0/5	5/5	3/3	0/2	0/1	0/1	0/1
Respiración abdominal forzada	0/5	5/5	3/3	0/2	0/1	0/1	0/1
Contracción abdominal	0/5	5/5	3/3	2/2	0/1	0/1	0/1
Erección de la cola (Signo de Straub)	0/5	5/5	1/3	1/2	0/1	0/1	0/1
Piloerección	0/5	4/5	3/3	2/2	1/1	1/1	0/1
Micción	0/5	2/5	1/3	1/2	0/1	0/1	0/1
Defecación	0/5	2/5	1/3	1/2	1/1	1/1	0/1
Hipoactividad	0/5	5/5	3/3	2/2	1/1	1/1	0/1
Ataxia	0/5	5/5	3/3	2/2	1/1	1/1	0/1
Pérdida del reflejo de enderezamiento	0/5	2/5	1/3	1/2	0/1	0/1	0/1
Parálisis de patas	0/5	5/5	3/3	2/2	1/1	1/1	0/1
Analgesia (presión en la base de la cola)	0/5	5/5	2/3	1/2	0/1	0/1	0/1
Pérdida del Reflejo pineal	0/5	5/5	3/3	1/2	0/1	0/1	0/1

Signos de envenenamiento sistémico	0 min	5 min	15 min	30 min	60 min	180 min	1440 min
Reacción de alarma disminuida	0/5	3/5	2/3	1/2	0/1	0/1	0/1
Temblores del cuerpo	0/5	0/5	1/3	2/2	1/1	0/1	0/1
Convulsiones tónico clónicas	0/5	3/5	1/3	1/2	0/1	0/1	0/1
Fasciculaciones	0/5	2/5	1/3	0/2	0/1	0/1	0/1
Enoftalmia	0/5	1/5	1/3	0/2	0/1	0/1	0/1
Lacrimación	0/5	3/5	2/3	0/2	0/1	0/1	0/1
Salivación	0/5	3/5	2/3	1/2	0/1	0/1	0/1
Pasividad	0/5	2/5	3/3	2/2	1/1	1/1	0/1
Muerte	0/5	2/5	1/3	1/2	0/1	0/1	0/1

Para esta dosis, los resultados de lágrimas y saliva reportados en mm se presentan en la **Tabla 37** y solo se observó lacrimación entre los 5 y 15 minutos, mientras que la sialorrea mostró un aumento constante de los 5 a los 30 minutos y para los 60 minutos no había efecto de salivación.

Tabla 37. Resultados en mm de la lacrimación y sialorrea posterior a la inoculación de veneno de *C. bicolor* con la dosis de 1.5 DL₅₀ (5.1 mg/Kg).

Signos de envenenamiento sistémico	0 min	5 min	15 min	30 min	60 min	180 min	1440min
Lacrimación (mm)	0.0	3.2 ± 0.8	3.9 ± 1.6	0.0	0.0	0.0	0.0
Sialorrea (mm)	0.0	6.3 ± 1.5	6.9 ± 1.9	5.3 ± 0.8	0.0	0.9	0.0

Resultados expresados como la media ±DE.

En la **Figura 30**, se presentan algunos de los signos de envenenamiento observados con mayor intensidad en el envenenamiento por *C. bicolor*; con esta dosis alta.



a. Sialorrea



b. Cola de Straub



c. Parálisis de patas



d. Respiración abdominal forzada



e. Convulsiones tónico clónica, pérdida de reflejo de enderezamiento y muerte

Figura 30. Signos de envenenamiento después de inocular veneno de *C. bicolor* con la dosis de 1.5 DL₅₀.

4.1.5. Envenenamiento experimental con veneno de escorpión *Centruroides limbatus*

Todos los ratones que fueron inoculados con alguna de las 3 dosis de veneno de *C. limbatus* (0.5, 1 y 1.5 DL₅₀) mostraron signos de intoxicación. En las dosis baja e intermedia (0.5 y 1 DL₅₀), se evaluaron todos los tiempos hasta los 1440 minutos; sin embargo, en la dosis de 1.5 DL₅₀, solo pudimos realizar la evaluación durante los primeros 5 minutos, ya que a ese tiempo todos los ratones habían muerto.

4.1.5.1. Signos de envenenamiento observados después de inocular veneno de *C. limbatus* con la dosis 0.5 DL₅₀ (2.85 mg/Kg)

En esta dosis, los signos de envenenamiento que se observaron en el tamizado hipocrático se reportan en la **Tabla 38**, y la mayor frecuencia de ellos se registraron en los tiempos de 5 a 30 minutos, después de los 60 minutos hasta los 180 minutos de evaluación, la intensidad con que se presentaron los efectos era muy baja y para los 1440 minutos los animales se habían recuperado.

Tabla 38. Frecuencia de signos de envenenamiento en ratones al inocular veneno de *C. limbatus* con la dosis de 0.5 DL₅₀ (2.85 mg/Kg).

Signos de envenenamiento sistémico	0 min	5 min	15 min	30 min	60 min	180 min	1440 min
Actividad motora (disminuida)	0/5	5/5	3/5	2/5	1/5	0/5	0/5
Limpieza de nariz/boca	0/5	1/5	2/5	1/5	0/5	0/5	0/5
Taquipnea	0/5	3/5	2/5	1/5	2/5	0/5	0/5
Erección de la cola (Signo de Straub)	0/5	3/5	2/5	1/5	1/5	0/5	0/5
Piloerección	0/5	3/5	4/5	4/5	1/5	0/5	0/5
Micción	0/5	5/5	3/5	3/5	1/5	0/5	0/5
Defecación	0/5	1/5	3/5	4/5	1/5	1/5	0/5
Hipoactividad	0/5	4/5	5/5	5/5	3/5	0/5	0/5
Parálisis de patas	0/5	1/5	1/5	2/5	2/5	2/5	0/5
Pérdida del Reflejo pineal	0/5	2/5	1/5	1/5	1/5	0/5	0/5

Signos de envenenamiento sistémico	0 min	5 min	15 min	30 min	60 min	180 min	1440 min
Reacción de alarma aumentada	0/5	1/5	3/5	2/5	1/5	0/5	0/5
Temblores del cuerpo	0/5	1/5	1/5	1/5	1/5	0/5	0/5
Fasciculaciones	0/5	4/5	4/5	3/5	1/5	0/5	0/5
Exoftalmia	0/5	0/5	1/5	0/5	0/5	0/5	0/5
Enoftalmia	0/5	1/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
Lacrimación	0/5	5/5	5/5	5/5	2/5	0/5	0/5
Cromodacriorrea	0/5	5/5	5/5	4/5	1/5	0/5	0/5
Salivación	0/5	5/5	5/5	3/5	0/5	0/5	0/5
Agresividad	0/5	0/5	2/5	2/5	2/5	0/5	0/5
Pasividad	0/5	5/5	3/5	3/5	2/5	1/5	0/5
Temerosidad	0/5	1/5	1/5	2/5	3/5	1/5	0/5

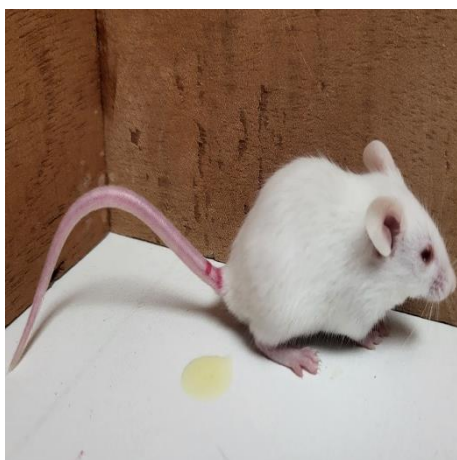
Para esta dosis, los resultados de lágrimas y saliva reportados en mm se presentan en la **Tabla 39** y solo se observó lacrimación entre los 5 y 60 minutos, mientras que la sialorrea mostró un aumento de los 5 a los 30 minutos y para los 60 minutos no había efecto de salivación.

Tabla 39. Resultados en mm de la lacrimación y sialorrea posterior a la inoculación de veneno de *C. limbatus* con la dosis de 0.5 DL₅₀ (2.85 mg/Kg).

Signos de envenenamiento sistémico	0 min	5 min	15 min	30 min	60 min	180 min	1440 min
Lacrimación (mm)	0.0	6.9 ± 2.1	4.8 ± 1.2	4.7 ± 1.0	3.4 ± 1.8	0.0	0.0
Sialorrea (mm)	0.0	11.5 ± 2.1	11.3 ± 3.1	7.6 ± 3.6	0.0	0.0	0.0

Resultados expresados como la media ±DE.

En la **Figura 31**, se muestran algunos de los signos de envenenamiento observados en esta dosis baja.



a. Cola de Straub y micción



b. Sialorrea



e. Izd.: enoftalmia; der.: exoftalmia



d. Piloerección y temerosidad



e. Catalepsia



f. Cromodacriorrea y lacrimación

Figura 31. Signos de envenenamiento después de inocular veneno de *C. limbatus* con la dosis de 0.5 DL₅₀.

4.1.5.2. Signos de envenenamiento observados después de inocular veneno de *C. limbatus* a 1 DL₅₀ (5.7 mg/Kg)

Para esta dosis, los signos de envenenamiento que se observaron en el tamizado hipocrático se reportan en la **Tabla 40**, es importante señalar que para los tiempos de 0 a 5 minutos la medición es con base a 5 ratones, a los 15 minutos es con base a 3, porque 2 ratones murieron a los 5 minutos, de los 30 a los 1440 minutos es con base a 2, porque 1 ratón murió a los 15 minutos.

Tabla 40. Frecuencia de signos de envenenamiento en ratones al inocular veneno de *C. limbatus* con la dosis de 1 DL₅₀ (5.7 mg/Kg).

Signos de envenenamiento sistémico	0 min	5 min	15 min	30 min	60 min	180 min	1440 min
Actividad motora (disminuida)	0/5	5/5	3/3	2/2	1/2	1/2	0/2
Limpieza de nariz/boca	0/5	2/5	2/3	1/2	0/2	0/2	0/2
Bradipnea	0/5	1/5	1/3	1/2	1/2	0/2	0/2
Taquipnea	0/5	2/5	1/3	1/2	0/2	0/2	0/2
Respiración abdominal forzada	0/5	4/5	2/3	1/2	1/2	0/2	0/2
Contracción abdominal	0/5	3/5	1/3	0/2	0/2	0/2	0/2
Erección de la cola (Signo de Straub)	0/5	2/5	1/3	0/2	0/2	0/2	0/2
Piloerección	0/5	1/5	2/3	1/2	1/2	1/2	0/2
Micción	0/5	3/5	1/3	1/2	0/2	0/2	0/2
Defecación	0/5	3/5	1/3	2/2	2/2	1/2	0/2
Hipoactividad	0/5	3/5	2/3	1/2	1/2	1/2	0/2
Ataxia	0/5	2/5	2/3	1/2	1/2	0/2	0/2
Pérdida del reflejo de enderezamiento	0/5	2/5	1/3	0/2	0/2	0/2	0/2
Parálisis de patas	0/5	2/5	2/3	1/2	1/2	0/2	0/2
Analgesia (presión en la base de la cola)	0/5	2/5	1/3	1/2	1/2	1/2	0/2
Pérdida del Reflejo pineal	0/5	2/5	2/3	1/2	1/2	1/2	0/2
Reacción de alarma disminuida	0/5	1/5	2/3	0/2	0/2	0/2	0/2
Temblores del cuerpo	0/5	4/5	2/3	1/2	1/2	0/2	0/2

Signos de envenenamiento sistémico	0 min	5 min	15 min	30 min	60 min	180 min	1440 min
Convulsiones tónico clónicas	0/5	3/5	2/3	0/2	0/2	0/2	0/2
Fasciculaciones	0/5	4/5	3/3	1/2	1/2	1/2	0/2
Exoftalmia	0/5	2/5	1/3	0/2	0/2	0/2	0/2
Enoftalmia	0/5	0/5	1/3	1/2	1/2	1/2	0/2
Lacrimación	0/5	5/5	2/3	1/2	0/2	0/2	0/2
Cromodacriorrea	0/5	4/5	2/3	1/2	0/2	0/2	0/2
Salivación	0/5	5/5	2/3	2/2	0/2	0/2	0/2
Signo de Robichaud	0/5	1/5	1/3	1/2	1/2	0/2	0/2
Agresividad	0/5	0/5	2/3	2/2	2/2	0/2	0/2
Pasividad	0/5	4/5	2/3	1/2	1/2	1/2	0/2
Temerosidad	0/5	2/5	2/3	1/2	1/2	1/2	0/2
Sangrado por nariz/boca	0/5	1/5	1/3	0/2	0/2	0/2	0/2
Muerte	0/5	2/5	1/3	0/2	0/2	0/2	0/2

Para esta dosis, los resultados de lágrimas y saliva reportados en mm se presentan en la **Tabla 41** y solo se observó que estos parámetros estuvieron aumentados entre los 5 y 30 minutos.

Tabla 41. Resultados en mm de la lacrimación y salivación posterior a la inoculación de veneno de *C. limbatus* con la dosis de 1 DL₅₀ (5.7 mg/Kg).

Signos de envenenamiento sistémico	0 min	5 Min	15 min	30 min	60 min	180 min	1440 min
Lacrimación (mm)	0.0	6.3 ± 2.0	2.8 ± 1.7	2.7 ± 0.2	0.0	0.0	0.0
Sialorrea (mm)	0.0	8.6 ± 3.6	14.3 ± 5.0	8.4 ± 5.9	0.0	0.0	0.0

Resultados expresados como la media ±DE.

En la **Figura 32**, se presentan algunos de los signos de envenenamiento observados en esta dosis intermedia.



a. Sialorrea espesa



b. Parálisis de patas y lacrimación



c. Cola de Straub y presencia de heces



d. Respiración forzada



e. Convulsiones tónico clónicas y muerte

Figura 32. Signos de envenenamiento después de inocular veneno de *C. limbatus* con la dosis de 1 DL₅₀.

4.1.5.3. Signos de envenenamiento observados después de inocular veneno de *C. limbatus* con 1.5 DL₅₀ (8.55 mg/Kg)

Para esta dosis, los signos de envenenamiento sistémico que se observaron en el tamizado hipocrático se reportan en la **Tabla 42**; en esta dosis, solo se logró evaluar hasta los 5 minutos, ya que después de ese tiempo todos los ratones habían muerto, siendo esta dosis totalmente letal.

Tabla 42. Frecuencia de signos de envenenamiento en ratones al inocular veneno de *C. limbatus* con la dosis de 1.5 DL₅₀ (8.55 mg/Kg).

Signos de envenenamiento sistémico	0 min	5 min
Taquipnea	0/5	5/5
Respiración abdominal forzada	0/5	5/5
Contracción abdominal	0/5	5/5
Erección de la cola (Signo de Straub)	0/5	5/5
Piloerección	0/5	5/5
Micción	0/5	5/5
Defecación	0/5	2/5
Palidez	0/5	3/5
Cianosis	0/5	2/5
Ataxia	0/5	5/5
Pérdida del reflejo de enderezamiento	0/5	5/5
Parálisis patas	0/5	5/5
Analgesia (presión en la base de la cola)	0/5	5/5
Pérdida del reflejo pineal	0/5	5/5
Reacción de alarma disminuida	0/5	4/5
Convulsiones tónico clónicas	0/5	4/5
Exoftalmia	0/5	4/5
Lacrimación	0/5	5/5
Cromodacriorrea	0/5	4/5
Salivación	0/5	5/5
Muerte	0/5	5/5

Para esta dosis, los resultados de lágrimas y saliva reportados en mm se presentan en la **Tabla 43**.

Tabla 43. Resultados en mm de la lacrimación y sialorrea posterior a la inoculación de veneno de *C. limbatus* con la dosis de 1.5 DL₅₀ (8.55 mg/Kg).

Signos de envenenamiento sistémico	0 min	5 min
Lacrimación (mm)	0.0	2.2 ± 0.3
Sialorrea (mm)	0.0	4.3 ± 0.5

Resultados expresados como la media ±DE.

En la **Figura 33**, se muestran algunos de los signos de envenenamiento observados en esta dosis alta.



a. Respiración abdominal forzada, parálisis de patas



b. Enoftalmia



c. Sialorrea, lacrimación, cromodaciorrea y heces pastosas



d. Cola de Straub

Figura 33. Signos de envenenamiento después de inocular veneno de *C. limbatus* con la dosis de 1.5 DL₅₀

4.1.6. Hemograma completo de ratones inoculados con el veneno de *Tityus (Atreus) sp.*

En los ensayos realizados para determinar el compromiso hematológico en ratones inoculados con el veneno de *Tityus (Atreus) sp.* se realizó en las tres dosis ensayadas (0.5 DL₅₀, 1 DL₅₀ y 1.5 DL₅₀). Para la dosis baja (0.5 DL₅₀) se logró tomar muestras para hacer el hemograma completo hasta las 24 horas, pero para la dosis intermedia (1 DL₅₀) solo se pudo tomar muestra de sangre hasta los 15 minutos; para la dosis alta (1.5 DL₅₀) solo se logró hasta los 5 minutos, debido a que en este tiempo los ratones habían muerto después de la inyección i.v.

En las Tablas 44, 45 y 46, se presentan los valores obtenidos en el hemograma de ratones inoculados con 0.5 DL₅₀, 1 DL₅₀ y 1.5 DL₅₀, respectivamente, expresados como la media $\pm$ DE y diferencia estadísticamente significativa en comparación con el grupo control, según la prueba de Dunnett (*p<0.05).

Tabla 44. Resultados de hemograma en ratones al inocular veneno de *Tityus (Atreus) sp.* con la dosis de 0.5 DL₅₀ (2.1 mg/Kg).

Hemograma completo de ratones al inocular veneno de <i>Tityus (Atreus) sp.</i> con la dosis de 0.5 DL₅₀							
Parámetro	0 min	5 min	15 min	30 min	60 min	180 min	1440 min
GR (10⁶/μL)	7.83 $\pm$ 0.74	7.96 $\pm$ 0.71	8.31 $\pm$ 0.85	8.47 $\pm$ 0.62	8.69 $\pm$ 0.74	8.85 $\pm$ 0.98	8.30 $\pm$ 0.91
HGB (g/dL)	13.8 $\pm$ 1.3	15.0 $\pm$ 0.9	15.1 $\pm$ 0.8	15.2 $\pm$ 0.9	14.9 $\pm$ 1.2	16.1 $\pm$ 0.7*	15.5 $\pm$ 1.4*
HCT (%)	40.7 $\pm$ 4.1	47.8 $\pm$ 2.1*	48.6 $\pm$ 2.6*	48.4 $\pm$ 1.8*	51.4 $\pm$ 3.6*	48.7 $\pm$ 2.2*	45.5 $\pm$ 1.4*
VCM (fL)	52.0 $\pm$ 3.4	60.4 $\pm$ 4.9	58.9 $\pm$ 4.9	57.5 $\pm$ 5.8	59.6 $\pm$ 8.3	55.6 $\pm$ 7.9	55.4 $\pm$ 7.5
HCM (pg)	17.6 $\pm$ 0.8	19.0 $\pm$ 1.7	18.4 $\pm$ 2.6	18.0 $\pm$ 1.4	17.2 $\pm$ 1.5	18.4 $\pm$ 2.6	18.9 $\pm$ 3.3
CHCM (g/dL)	33.8 $\pm$ 1.3	31.4 $\pm$ 1.1*	31.2 $\pm$ 2.4*	31.4 $\pm$ 1.8*	29.0 $\pm$ 2.5*	33.1 $\pm$ 0.4	34.0 $\pm$ 2.2
ADE (%)	17.1 $\pm$ 1.0	18.3 $\pm$ 0.5*	18.9 $\pm$ 1.2*	18.7 $\pm$ 0.7*	19.6 $\pm$ 0.7*	18.0 $\pm$ 0.5	18.9 $\pm$ 0.7*
GB 10³/μl	5.9 $\pm$ 1.0	4.6 $\pm$ 0.6	6.6 $\pm$ 0.7	7.9 $\pm$ 0.5*	11.1 $\pm$ 1.4*	8.9 $\pm$ 1.6*	6.2 $\pm$ 0.9
NEU %	15 $\pm$ 2	13 $\pm$ 2	14 $\pm$ 2	27 $\pm$ 4*	39 $\pm$ 3*	60 $\pm$ 3*	13 $\pm$ 2

Hemograma completo de ratones al inocular veneno de <i>Tityus (Atreus)</i> sp. con la dosis de 0.5 DL ₅₀							
Parámetro	0 min	5 min	15 min	30 min	60 min	180 min	1440 min
LIN %	70 ± 3	75 ± 2	75 ± 4	62 ± 4*	51 ± 4*	29 ± 3*	76 ± 3*
MON %	13 ± 2	10 ± 1*	10 ± 2*	10 ± 2*	9 ± 1*	9 ± 2*	10 ± 1*
EOS %	2 ± 1	1 ± 1	2 ± 1	1 ± 1	1 ± 1	1 ± 1	1 ± 1
BAS %	0	0	0	0	0	0	0
PLT 10 ³ /μL	669 ± 155	799 ± 89	919 ± 108	1057 ± 66*	913 ± 41*	838 ± 152*	680 ± 67

Resultados expresados como la media ±DE. Diferencia estadísticamente significativa en comparación con el control según la prueba de Dunnett (*p<0.05).

Tabla 45. Resultados de hemograma en ratones al inocular veneno de *Tityus (Atreus)* sp. con la dosis de 1 DL₅₀ (4.2 mg/Kg).

Hemograma completo de ratones al inocular veneno de <i>Tityus (Atreus)</i> sp. con la dosis de 1 DL ₅₀			
Parámetro	0 min	5 min	15 min
GR (10 ⁶ /μL)	7.83 ± 0.74	7.56 ± 0.55	7.83 ± 0.55
HGB (g/dL)	13.8 ± 1.3	14.8 ± 0.7	14.4 ± 0.7
HCT (%)	40.7 ± 4.1	44.7 ± 1.8	44.7 ± 1.9
VCM (fL)	52.0 ± 3.4	59.3 ± 5.4	57.3 ± 3.1
HCM (pg)	17.6 ± 0.8	19.6 ± 1.9	18.9 ± 1.1
CHCM (g/dL)	33.8 ± 1.3	33.0 ± 0.4	32.9 ± 0.3
ADE (%)	17.1 ± 1.0	18.1 ± 0.8	18.6 ± 0.6*
GB 10 ³ /μl	5.9 ± 1.0	5.0 ± 0.2	4.9 ± 0.4
NEU %	15 ± 2	39 ± 3*	53 ± 1.7*
LIN %	70 ± 3	50 ± 4*	36 ± 4*
MON %	13 ± 2	10 ± 2*	10 ± 2*
EOS %	2 ± 1	1	1 ± 1
BAS %	0	0	0
PLT 10 ³ /μL	669 ± 155	698 ± 48	767 ± 37

Resultados expresados como la media ±DE. Diferencia estadísticamente significativa en comparación con el control según la prueba de Dunnett (*p<0.05).

Tabla 46. Resultados de hemograma en ratones al inocular veneno de *Tityus (Atreus) sp.* con la dosis de 1.5 DL₅₀ (6.3 mg/Kg).

Hemograma completo de ratones al inocular veneno de <i>Tityus (Atreus) sp.</i> con la dosis de 1.5 DL₅₀		
Parámetro	0 min	5 min
GR (10⁶/μL)	7.83 ± 0.74	7.94 ± 0.4
HGB (g/dL)	13.8 ± 1.3	14.4 ± 0.5
HCT (%)	40.7 ± 4.1	43.9 ± 1.8
VCM (fL)	52.0 ± 3.4	55.4 ± 4.1
HCM (pg)	17.6 ± 0.8	18.2 ± 1.2
CHCM (g/dL)	33.8 ± 1.3	32.9 ± 0.4
ADE (%)	17.1 ± 1.0	18.3 ± 1.2*
GB 10³/μl	5.9 ± 1.0	5.4 ± 1.2
NEU %	15 ± 2	15 ± 2
LIN %	70 ± 3	73 ± 3
MON %	13 ± 2	10 ± 2*
EOS %	2 ± 1	1 ± 1
BAS %	0	0
PLT 10³/μL	669 ± 155	682 ± 64

Resultados expresados como la media ±DE. Diferencia estadísticamente significativa en comparación con el control según la prueba de t de Student (*p<0.05).

En los **Gráficos 1, 2, 3 y 4**, se muestra el comportamiento del hematocrito, glóbulos blancos, neutrófilos y plaquetas. Estos parámetros obtuvieron una diferencia significativa en 3 o más tiempos de evaluación según la prueba de Dunnett (*p<0.05), por lo que se procedió a realizar un ANOVA de dos factores para tiempo y dosis, encontrándose diferencia significativa (p<0.05) para el factor tiempo en todos los parámetros; mientras que, para el factor dosis no se encontró diferencia significativa (p>0.05) en los glóbulos blancos, sin embargo, para la interacción entre los dos factores (tiempo y dosis) hubo diferencia significativa (p<0.05) para los glóbulos blancos y neutrófilos.

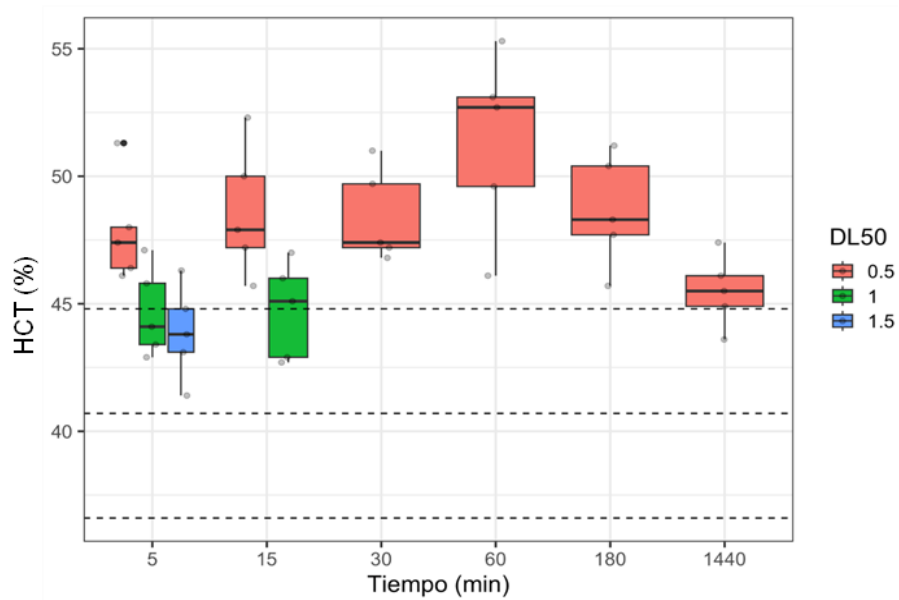


Gráfico 1. Comportamiento del hematocrito en ratones después de recibir veneno de *Tityus (Atrous) sp.* en diferentes dosis.
La línea punteada representa la media ($\pm 1DS$) del grupo control.

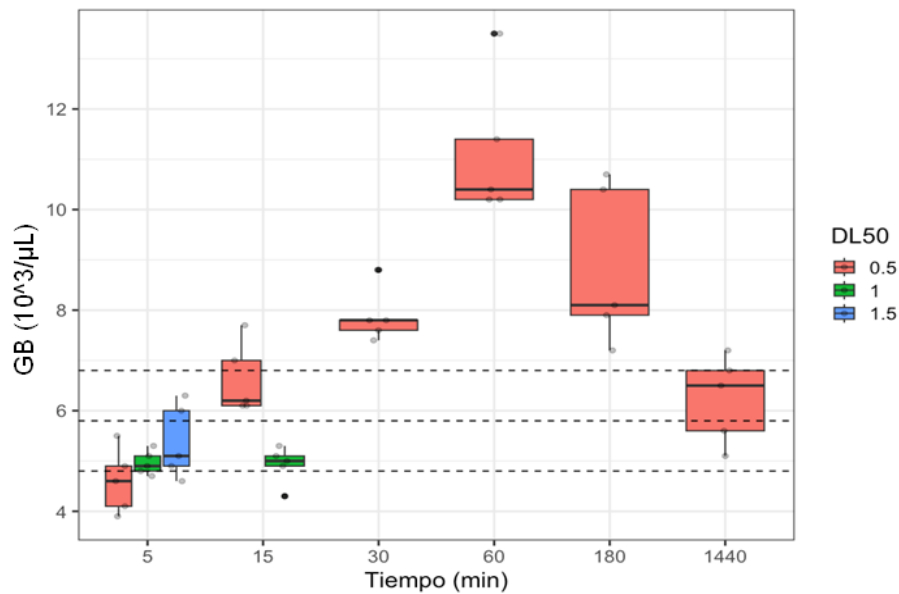


Gráfico 2. Comportamiento de los glóbulos blancos en ratones después de recibir veneno de *Tityus (Atrous) sp.* en diferentes dosis.
La línea punteada representa la media ($\pm 1DS$) del grupo control.

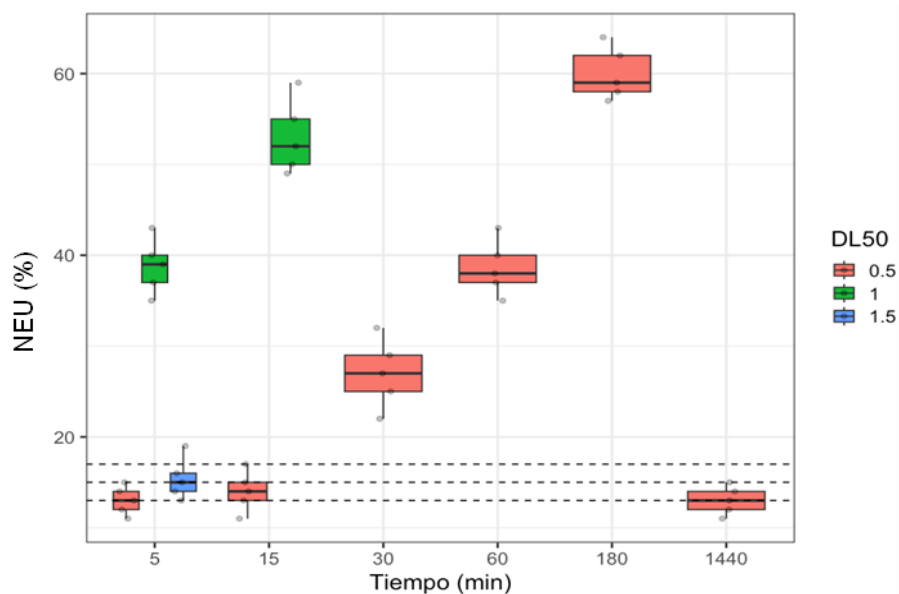


Gráfico 3. Comportamiento de los neutrófilos en ratones después de recibir veneno de *Tityus (Atrous) sp.* en diferentes dosis.
La línea punteada representa la media ($\pm 1DS$) del grupo control.

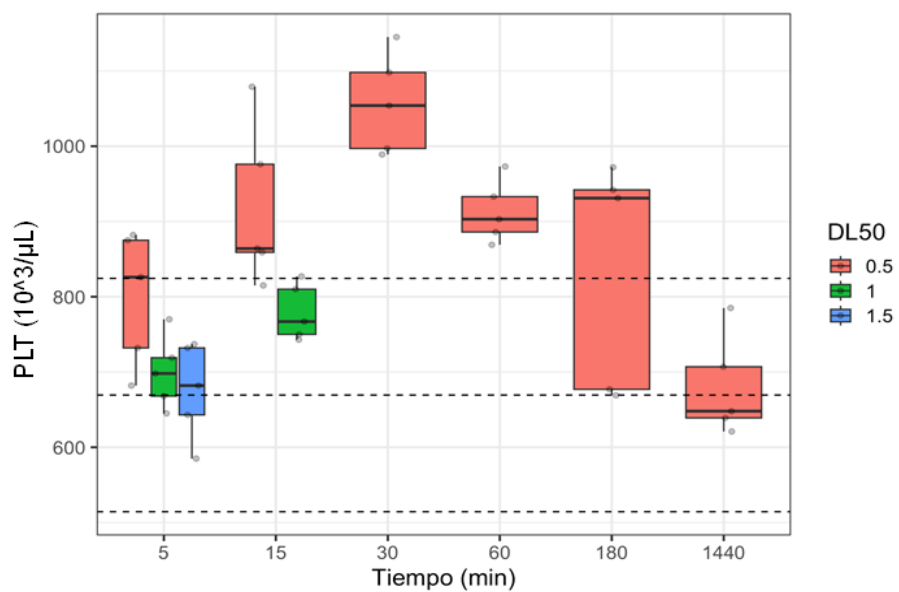


Gráfico 4. Comportamiento de las plaquetas en ratones después de recibir veneno de *Tityus (Atrous) sp.* en diferentes dosis.
La línea punteada representa la media ($\pm 1DS$) del grupo control.

4.1.7. Hemograma completo de ratones inoculados con el veneno de *Tityus (Atreus) championi*

En los ensayos realizados para determinar la alteración hematológica en ratones inoculados con el veneno de *T. championi*, se analizaron las tres dosis ensayadas (0.5 DL₅₀, 1 DL₅₀ y 1.5 DL₅₀). Para la dosis baja (0.5 DL₅₀) y la dosis intermedia (1 DL₅₀) se logró tomar muestras para hacer el hemograma completo hasta las 24 horas, pero para la dosis alta (1.5 DL₅₀) solo se logró hasta los 5 minutos, debido a que en este tiempo los ratones habían muerto después de la inyección i.v.

En las Tablas 47, 48 y 49, se presentan los valores obtenidos en el hemograma de ratones inoculados con 0.5 DL₅₀, 1 DL₅₀ y 1.5 DL₅₀, respectivamente, expresados como la media $\pm$ DE y diferencia estadísticamente significativa en comparación con el grupo control según la prueba de Dunnett (*p<0.05).

Tabla 47. Hemograma completo de ratones al inocular veneno de *T. championi* con la dosis de 0.5 DL₅₀ (1.45 mg/Kg).

Hemograma completo de ratones al inocular veneno de <i>T. championi</i> con la dosis de 0.5 DL ₅₀							
Parámetro	0 min	5 min	15 min	30 min	60 min	180 min	1440 min
GR (10 ⁶ /μL)	7.83 $\pm$ 0.74	7.65 $\pm$ 1.07	7.52 $\pm$ 0.41	7.17 $\pm$ 0.50	7.40 $\pm$ 0.73	6.80 $\pm$ 0.63	7.61 $\pm$ 0.60
HGB (g/dL)	13.8 $\pm$ 1.3	14.5 $\pm$ 0.9	15.2 $\pm$ 2.5	13.3 $\pm$ 0.8	13.5 $\pm$ 1.5	13.5 $\pm$ 0.8	13.8 $\pm$ 0.8
HCT (%)	40.7 $\pm$ 4.1	46.0 $\pm$ 6.3	45.5 $\pm$ 6.9	39.9 $\pm$ 2.3	44.2 $\pm$ 4.2	42.3 $\pm$ 1.9	42.0 $\pm$ 2.3
VCM (fL)	52.0 $\pm$ 3.4	60.4 $\pm$ 5.2	60.9 $\pm$ 11.9*	55.8 $\pm$ 4.2	59.8 $\pm$ 2.0*	62.7 $\pm$ 6.7	55.6 $\pm$ 6.4
HCM (pg)	17.6 $\pm$ 0.8	19.2 $\pm$ 1.5	20.4 $\pm$ 4.2*	18.5 $\pm$ 1.3	18.2 $\pm$ 0.7	20.0 $\pm$ 2.1	18.2 $\pm$ 2.1
CHCM (g/dL)	33.8 $\pm$ 1.3	31.9 $\pm$ 2.6	33.4 $\pm$ 0.6	33.2 $\pm$ 0.5*	30.4 $\pm$ 1.0	31.9 $\pm$ 1.0	32.8 $\pm$ 0.5*
ADE (%)	17.1 $\pm$ 1.0	18.3 $\pm$ 0.9	19.3 $\pm$ 1.3*	18.0 $\pm$ 1.2	18.5 $\pm$ 1.0	18.8 $\pm$ 1.3*	19.2 $\pm$ 0.8*
GB 10 ³ /μl	5.9 $\pm$ 1.0	5.3 $\pm$ 1.2	5.9 $\pm$ 1.8	6.0 $\pm$ 1.4	6.7 $\pm$ 2.1	4.6 $\pm$ 0.6	5.7 $\pm$ 1.5
NEU %	15 $\pm$ 2	16 $\pm$ 4	11 $\pm$ 1	13 $\pm$ 2	18 $\pm$ 2	23 $\pm$ 9*	14 $\pm$ 1
LIN %	70 $\pm$ 3	73 $\pm$ 4	75 $\pm$ 2	71 $\pm$ 3	64 $\pm$ 5*	61 $\pm$ 6*	67 $\pm$ 3

Hemograma completo de ratones al inocular veneno de <i>T. championi</i> con la dosis de 0.5 DL ₅₀							
Parámetro	0 min	5 min	15 min	30 min	60 min	180 min	1440 min
MON %	13 ± 2	10 ± 2	12 ± 2	14 ± 2	17 ± 5	14 ± 3	17 ± 3*
EOS %	2 ± 1	1 ± 1	2 ± 1	2 ± 1	1 ± 1	2 ± 1	2 ± 1
BAS %	0	0	0	0	0	0	0
PLT 10 ³ /μL	669 ± 155	580 ± 88	665 ± 168	668 ± 152	668 ± 184	1181 ± 83*	886 ± 177

Resultados expresados como la media ±DE. Diferencia estadísticamente significativa en comparación con el control según la prueba de Dunnett (*p<0.05).

Tabla 48. Hemograma completo de ratones al inocular veneno de *T. championi* con la dosis de 1 DL₅₀ (2.9 mg/Kg).

Hemograma completo de ratones al inocular veneno de <i>T. championi</i> con la dosis de 1 DL ₅₀							
Parámetro	0 min	5 min	15 min	30 min	60 min	180 min	1440 min
GR (10 ⁶ /μL)	7.83 ± 0.74	7.65 ± 1.07	7.52 ± 0.41	7.17 ± 0.50	7.40 ± 0.73	6.80 ± 0.63	7.61 ± 0.60
HGB (g/dL)	13.8 ± 1.3	13.5 ± 2.1	15.7 ± 1.8	14.8 ± 1.7	16.9 ± 2.6*	14.6 ± 0.5	13.5 ± 1.2
HCT (%)	40.7 ± 4.1	41.1 ± 7.0	47.0 ± 5.3	48.4 ± 6.9*	51.0 ± 4.0*	43.0 ± 1.5	40.6 ± 4.0
VCM (fL)	52.0 ± 3.4	59.4 ± 4.6	55.1 ± 2.0	61.0 ± 2.5*	51.2 ± 7.5	55.5 ± 2.1	58.4 ± 11.7
HCM (pg)	17.6 ± 0.8	19.6 ± 1.8	18.4 ± 0.6	18.7 ± 1.0	18.7 ± 0.9	18.9 ± 1.0	19.4 ± 3.8
CHCM (g/dL)	33.8 ± 1.3	33.8 ± 1.4	33.8 ± 1.5	33.8 ± 1.6*	33.8 ± 1.7	33.8 ± 1.8	33.8 ± 1.9
ADE (%)	17.1 ± 1.0	18.9 ± 1.1*	19.8 ± 1.2*	19.4 ± 1.3*	20.1 ± 1.4*	19.2 ± 1.5*	18.6 ± 1.6
GB 10 ³ /μl	5.9 ± 1.0	6.4 ± 1.7	6.7 ± 1.5	7.7 ± 0.6	12.3 ± 1.8*	14.4 ± 1.7*	5.4 ± 1.0
NEU %	15 ± 2	12 ± 3	11 ± 1	16 ± 4	17 ± 3	41 ± 5*	17 ± 3
LIN %	70 ± 3	76 ± 4	76 ± 3	71 ± 5	75 ± 3	37 ± 7*	70 ± 3
MON %	13 ± 2	11 ± 2	11 ± 2	11 ± 3	6 ± 2*	21 ± 3*	12 ± 1
EOS %	2 ± 1	2 ± 1	2 ± 1	1 ± 1	2 ± 1	1 ± 1	2 ± 1
BAS %	0	0	0	0	0	0	0
PLT 10 ³ /μL	669 ± 155	853 ± 192	961 ± 136*	987 ± 143*	987 ± 64*	1072 ± 25*	613 ± 32

Resultados expresados como la media ±DE. Diferencia estadísticamente significativa en comparación con el control según la prueba de Dunnett (*p<0.05).

Tabla 49. Hemograma completo de ratones al inocular veneno de *T. championi* a la dosis de 1.5 DL₅₀ (4.35 mg/Kg).

Hemograma completo de ratones al inocular veneno de <i>T. championi</i> con la dosis de 1.5 DL ₅₀		
Parámetro	0 min	5 min
GR (10 ⁶ /μL)	7.83 ± 0.74	7.00 ± 0.68*
HGB (g/dL)	13.8 ± 1.3	13.7 ± 1.1
HCT (%)	40.7 ± 4.1	41.3 ± 3.2
VCM (fL)	52.0 ± 3.4	59.5 ± 7.7*
HCM (pg)	17.6 ± 0.8	19.8 ± 2.6*
CHCM (g/dL)	33.8 ± 1.3	33.2 ± 0.2
ADE (%)	17.1 ± 1.0	18.1 ± 0.8
GB 10 ³ /μl	5.9 ± 1.0	6.3 ± 2.5
NEU %	15 ± 2	17 ± 2
LIN %	70 ± 3	72 ± 3
MON %	13 ± 2	9 ± 2*
EOS %	2 ± 1	1 ± 1
BAS %	0	0
PLT 10 ³ /μL	669 ± 155	538 ± 94*

Resultados expresados como la media ±DE. Diferencia estadísticamente significativa en comparación con el control según la prueba de t de Student (*p<0.05).

En los Gráficos 5 y 6, se muestra el comportamiento de las plaquetas y la amplitud de distribución eritrocitaria. Estos parámetros obtuvieron una diferencia significativa en 3 o más tiempos de evaluación según la prueba de Dunnett (*p<0.05), por lo que se procedió a realizar un ANOVA de dos factores para tiempo y dosis, encontrándose diferencia significativa (p<0.05) para el factor tiempo solo en las plaquetas, mientras que, para el factor dosis se encontró diferencia significativa (p<0.05) en los dos parámetros, sin embargo, para la interacción entre los dos factores (tiempo y dosis) hubo diferencia significativa (p<0.05) solo en las plaquetas.

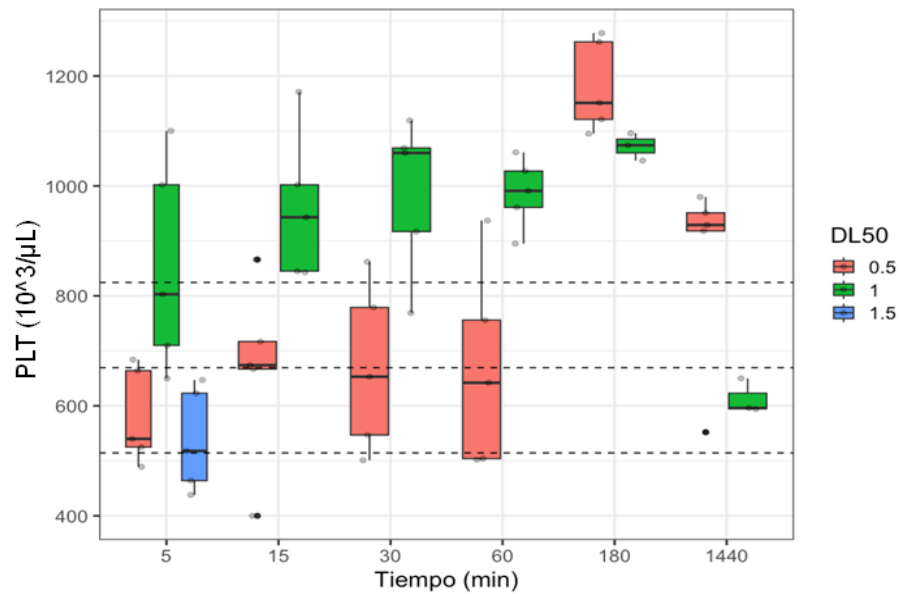


Gráfico 5. Comportamiento de las plaquetas en ratones después de recibir veneno de *T. championi* en diferentes dosis.
La línea punteada representa la media (± 1 DS) del grupo control.

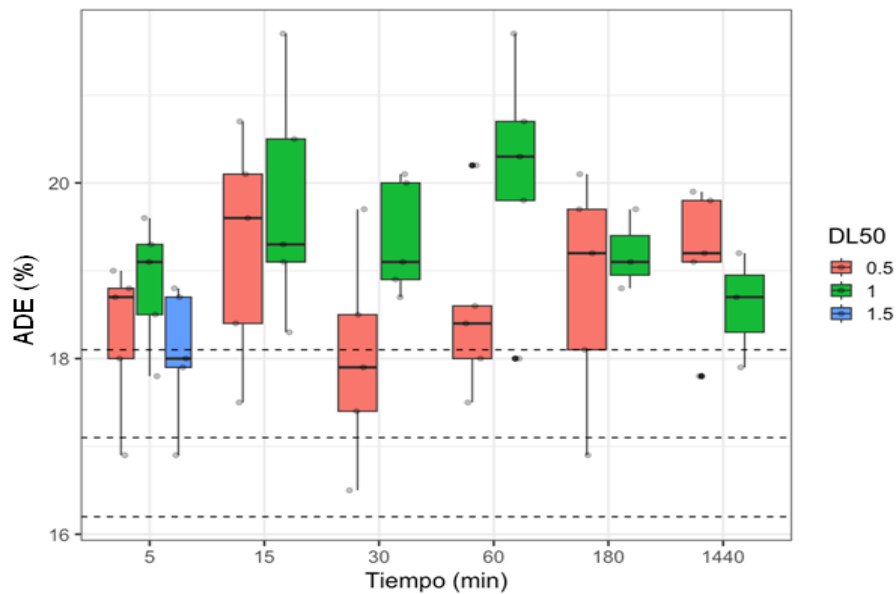


Gráfico 6. Comportamiento de la amplitud de distribución eritrocitaria en ratones después de recibir veneno de *T. championi* en diferentes dosis.
La línea punteada representa la media (± 1 DS) del grupo control.

4.1.8. Hemograma completo de ratones inoculados con el veneno de *Tityus (Atrous) festae*

Para determinar alguna alteración hematológica en ratones inoculados con el veneno de *T. festae*, se evaluaron las tres dosis (0.5 DL₅₀, 1 DL₅₀ y 1.5 DL₅₀). Para la dosis baja (0.5 DL₅₀) y la dosis intermedia (1 DL₅₀) se logró tomar muestras para hacer el hemograma completo hasta las 24 horas, para la dosis alta (1.5 DL₅₀) solo se logró hasta los 15 minutos debido a que en este tiempo los ratones habían muerto después de la inyección i.v.

En las Tablas 50, 51 y 52, se presentan los valores obtenidos en el hemograma de ratones inoculados con 0.5 DL₅₀, 1 DL₅₀ y 1.5 DL₅₀, respectivamente, expresados como la media $\pm$ DE y diferencia estadísticamente significativa en comparación con el grupo control según la prueba de Dunnett (*p<0.05).

Tabla 50. Hemograma completo de ratones al inocular veneno de *T. festae* a la dosis de 0.5 DL₅₀ (2.45 mg/Kg).

Hemograma completo de ratones al inocular veneno de <i>T. festae</i> con la dosis de 0.5 DL ₅₀							
Parámetro	0 min	5 min	15 min	30 min	60 min	180 min	1440 min
GR (10 ⁶ /μL)	7.83 $\pm$ 0.74	7.65 $\pm$ 1.07	8.07 $\pm$ 0.68	7.41 $\pm$ 0.43	7.10 $\pm$ 0.56	8.36 $\pm$ 0.58	7.40 $\pm$ 0.51
HGB (g/dL)	13.8 $\pm$ 1.3	15.7 $\pm$ 2.6	16.2 $\pm$ 1.4*	14.6 $\pm$ 0.7	13.9 $\pm$ 0.7	14.8 $\pm$ 1.2	14.1 $\pm$ 0.4
HCT (%)	40.7 $\pm$ 4.1	47.8 $\pm$ 7.3*	49.6 $\pm$ 3.2*	45.2 $\pm$ 1.3	43.3 $\pm$ 2.6	42.1 $\pm$ 3.1	42.8 $\pm$ 1.3
VCM (fL)	52.0 $\pm$ 3.4	62.5 $\pm$ 2.1*	62.1 $\pm$ 1.5*	61.1 $\pm$ 2.6*	61.1 $\pm$ 1.3*	50.3 $\pm$ 2.4	58.1 $\pm$ 5.0
HCM (pg)	17.6 $\pm$ 0.8	20.4 $\pm$ 0.9*	20.1 $\pm$ 0.2*	19.7 $\pm$ 0.4*	19.4 $\pm$ 0.7*	17.7 $\pm$ 0.5	19.1 $\pm$ 1.1*
CHCM (g/dL)	33.8 $\pm$ 1.3	32.7 $\pm$ 0.6	32.7 $\pm$ 0.8	32.3 $\pm$ 1.1	32.1 $\pm$ 0.4*	35.2 $\pm$ 1.1	33.0 $\pm$ 1.3
ADE (%)	17.1 $\pm$ 1.0	18.9 $\pm$ 1.0	18.2 $\pm$ 1.4	18.6 $\pm$ 1.3	17.5 $\pm$ 0.5	19.0 $\pm$ 0.8*	18.9 $\pm$ 1.8*
GB 10 ³ /μl	5.9 $\pm$ 1.0	6.0 $\pm$ 2.3	7.8 $\pm$ 1.2	6.3 $\pm$ 1.1	7.1 $\pm$ 0.9	7.1 $\pm$ 1.3	5.2 $\pm$ 1.3
NEU %	15 $\pm$ 2	11 $\pm$ 5	10 $\pm$ 4	9 $\pm$ 2	11 $\pm$ 2	52 $\pm$ 3*	20 $\pm$ 4
LIN %	70 $\pm$ 3	77 $\pm$ 3	78 $\pm$ 5	77 $\pm$ 4	70 $\pm$ 2	36 $\pm$ 3*	73 $\pm$ 4
MON %	13 $\pm$ 2	11 $\pm$ 2	11 $\pm$ 1	12 $\pm$ 2	17 $\pm$ 2*	11 $\pm$ 1	5 $\pm$ 1*

Hemograma completo de ratones al inocular veneno de <i>T. festae</i> con la dosis de 0.5 DL ₅₀							
Parámetro	0 min	5 min	15 min	30 min	60 min	180 min	1440 min
EOS %	2 ± 1	1 ± 1	2 ± 1	1 ± 1	2 ± 1	1 ± 1	1 ± 1
BAS %	0	0	0	0	0	0	0
PLT 10 ³ /μL	669 ± 155	636 ± 159	942 ± 85	1322 ± 81*	1051 ± 123*	1267 ± 304*	826 ± 159

Resultados expresados como la media ±DE. Diferencia estadísticamente significativa en comparación con el control según la prueba de Dunnett (*p<0.05).

Tabla 51. Hemograma completo de ratones al inocular veneno de *T. festae* a la dosis de 1 DL₅₀ (4.9 mg/Kg).

Hemograma completo de ratones al inocular veneno de <i>T. festae</i> con la dosis de 1 DL ₅₀							
Parámetro	0 min	5 min	15 min	30 min	60 min	180 min	1440 min
GR (10 ⁶ /μL)	7.83 ± 0.74	8.18 ± 0.33	8.65 ± 0.58	9.30 ± 0.45*	9.02 ± 0.34*	8.43 ± 0.69	8.65 ± 0.87
HGB (g/dL)	13.8 ± 1.3	14.4 ± 0.8	16.6 ± 1.6*	16.4 ± 0.7*	17.0 ± 1.4*	15.0 ± 1.1	15.3 ± 1.0
HCT (%)	40.7 ± 4.1	40.9 ± 2.6	46.3 ± 3.5*	46.4 ± 1.4*	47.9 ± 4.2*	43.0 ± 3.7	42.8 ± 1.9
VCM (fL)	52.0 ± 3.4	50.1 ± 2.7	49.8 ± 2.9	49.9 ± 1.2	47.9 ± 2.8	51.2 ± 2.4	49.7 ± 3.0
HCM (pg)	17.6 ± 0.8	17.6 ± 0.5	17.8 ± 0.6	17.6 ± 0.1	17.1 ± 0.8	17.8 ± 0.4	17.7 ± 0.7
CHCM (g/dL)	33.8 ± 1.3	35.2 ± 1.1	35.8 ± 1.3*	35.3 ± 0.6	35.7 ± 0.5*	34.9 ± 1.4	35.6 ± 1.1
ADE (%)	17.1 ± 1.0	18.5 ± 0.7	18.7 ± 0.5	19.0 ± 0.8*	18.6 ± 2.1	19.2 ± 1.0*	18.9 ± 0.9
GB 10 ³ /μL	5.9 ± 1.0	5.9 ± 1.3	5.3 ± 1.0	5.2 ± 0.4	5.8 ± 1.1	10.4 ± 3.9*	4.4 ± 0.5
NEU %	15 ± 2	55 ± 7*	52 ± 10*	63 ± 7*	64 ± 13*	36 ± 4*	48 ± 7*
LIN %	70 ± 3	34 ± 5*	36 ± 9*	27 ± 5*	28 ± 11*	45 ± 4*	40 ± 7*
MON %	13 ± 2	9 ± 3*	10 ± 2	9 ± 3*	6 ± 2*	18 ± 2*	11 ± 1
EOS %	2 ± 1	2 ± 1	2 ± 1	1 ± 1	1 ± 1	1 ± 1	1 ± 1
BAS %	0	0	0	0	0	0	0
PLT 10 ³ /μL	669 ± 155	1340 ± 286*	1388 ± 272*	1108 ± 255*	1041 ± 45*	1033 ± 75*	981 ± 189

Resultados expresados como la media ±DE. Diferencia estadísticamente significativa en comparación con el control según la prueba de Dunnett (*p<0.05).

Tabla 52. Hemograma completo de ratones al inocular veneno de *T. festae* a la dosis de 1.5 DL₅₀ (7.35 mg/kg).

Hemograma completo de ratones al inocular veneno de <i>T. festae</i> con la dosis de 1.5 DL₅₀			
Parámetro	0 min	5 min	15 min
GR (10⁶/μL)	7.83 ± 0.74	8.33 ± 1.07	9.10 ± 0.85*
HGB (g/dL)	13.8 ± 1.3	14.1 ± 1.3	14.7 ± 1.0
HCT (%)	40.7 ± 4.1	43.0 ± 3.7	44.3 ± 3.4
VCM (fL)	52.0 ± 3.4	52.3 ± 9.5	48.9 ± 4.6
HCM (pg)	17.6 ± 0.8	17.2 ± 3.3	16.2 ± 1.5
CHCM (g/dL)	33.8 ± 1.3	32.9 ± 0.5	33.1 ± 0.3
ADE (%)	17.1 ± 1.0	17.0 ± 1.1	18.3 ± 0.9
GB 10³/μl	5.9 ± 1.0	5.6 ± 1.3	4.7 ± 0.4
NEU %	15 ± 2	18 ± 2	13 ± 2
LIN %	70 ± 3	71 ± 3	72 ± 3
MON %	13 ± 2	17 ± 2*	13 ± 3
EOS %	2 ± 1	2 ± 1	2 ± 1
BAS %	0	0	0
PLT 10³/μL	669 ± 155	473 ± 41	630 ± 169

Resultados expresados como la media ±DE. Diferencia estadísticamente significativa en comparación con el control según la prueba de Dunnett (*p<0.05).

En los **Gráficos 7, 8, 9, 10, 11 y 12**, se muestra el comportamiento de la hemoglobina, el hematocrito, volumen corpuscular medio, hemoglobina corpuscular media, neutrófilos y plaquetas. Estos parámetros obtuvieron una diferencia significativa en 3 o más tiempos de evaluación según la prueba de Dunnett (*p<0.05), por lo que se procedió a realizar un ANOVA de dos factores para tiempo y dosis, encontrándose diferencia significativa (p<0.05) para el factor tiempo en el hematocrito, volumen corpuscular medio, neutrófilos y plaquetas, mientras que, para el factor dosis no se encontró diferencia significativa (p>0.05) en el hematocrito, sin embargo, para la interacción entre los dos factores (tiempo y dosis) no hubo diferencia significativa (p>0.05) para la hemoglobina corpuscular media.

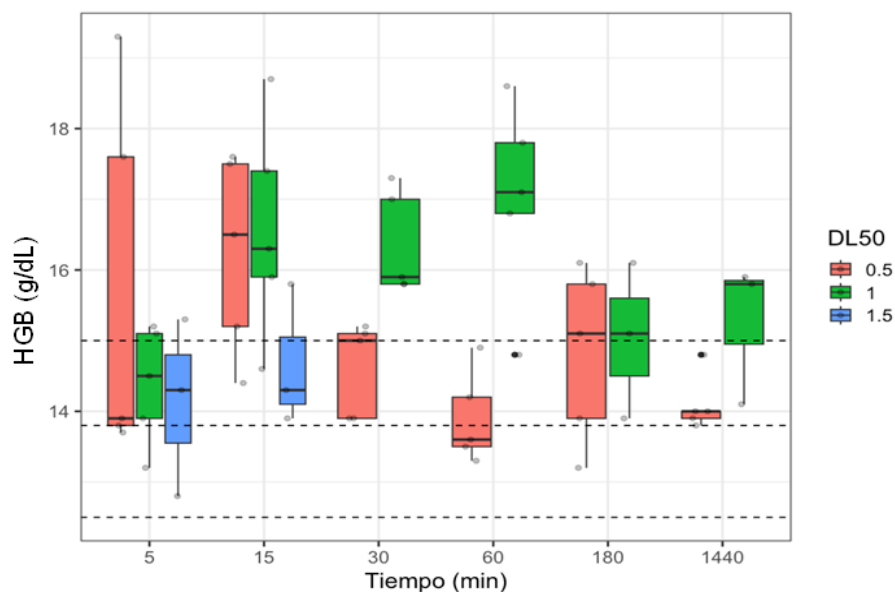


Gráfico 7. Comportamiento de la hemoglobina en ratones después de recibir veneno de *T. festae* en diferentes dosis.
La línea punteada representa la media ($\pm 1DS$) del grupo control.

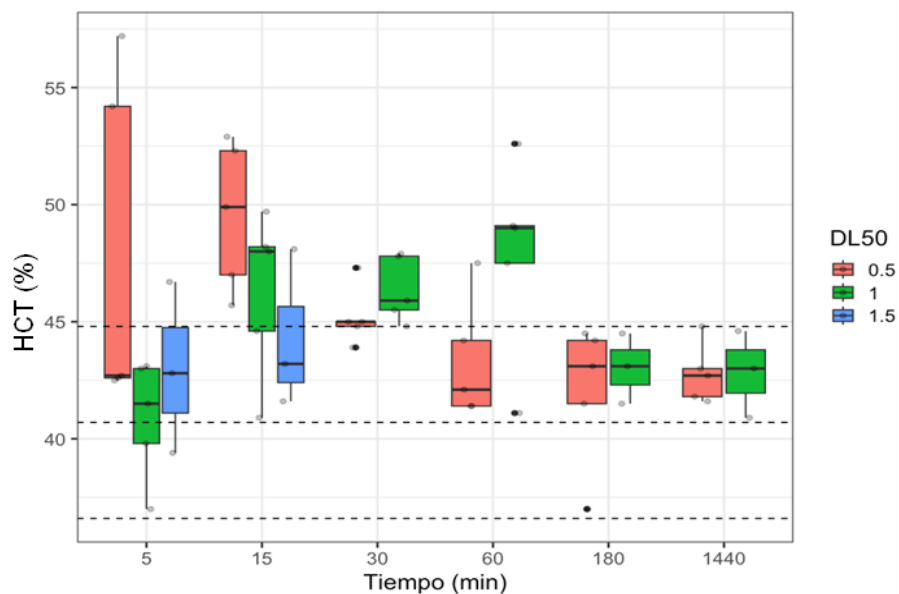


Gráfico 8. Comportamiento del hematocrito en ratones después de recibir veneno de *T. festae* en diferentes dosis.
La línea punteada representa la media ($\pm 1DS$) del grupo control.

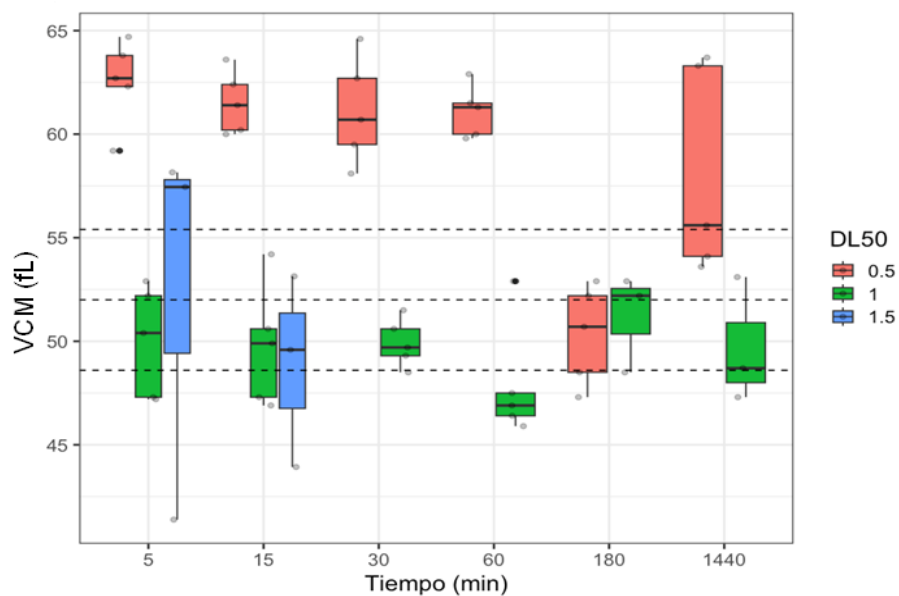


Gráfico 9. Comportamiento del volumen corpuscular medio en ratones después de recibir veneno de *T. festae* en diferentes dosis.
La línea punteada representa la media ($\pm 1DS$) del grupo control.

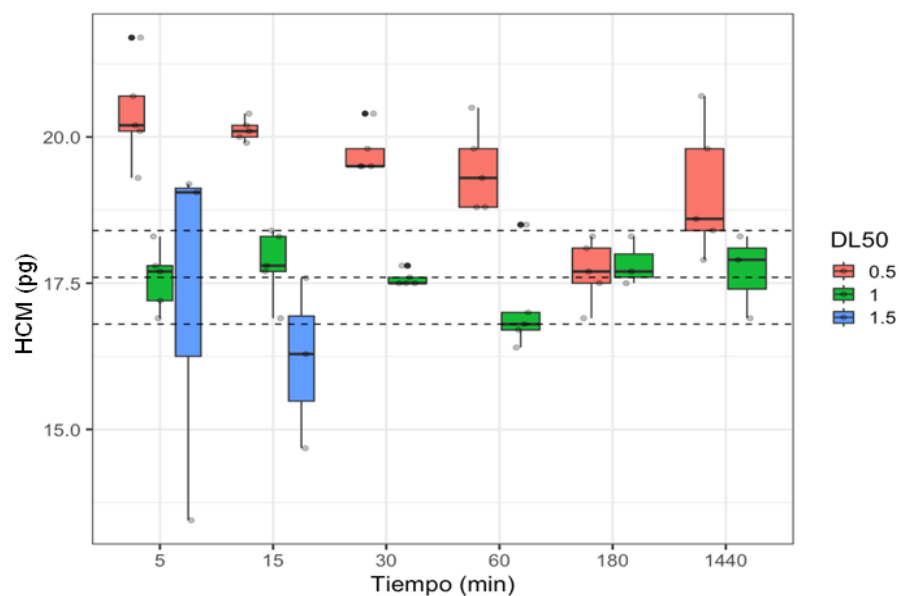


Gráfico 10. Comportamiento de la hemoglobina corpuscular media en ratones después de recibir veneno de *T. festae* en diferentes dosis.
La línea punteada representa la media ($\pm 1DS$) del grupo control.

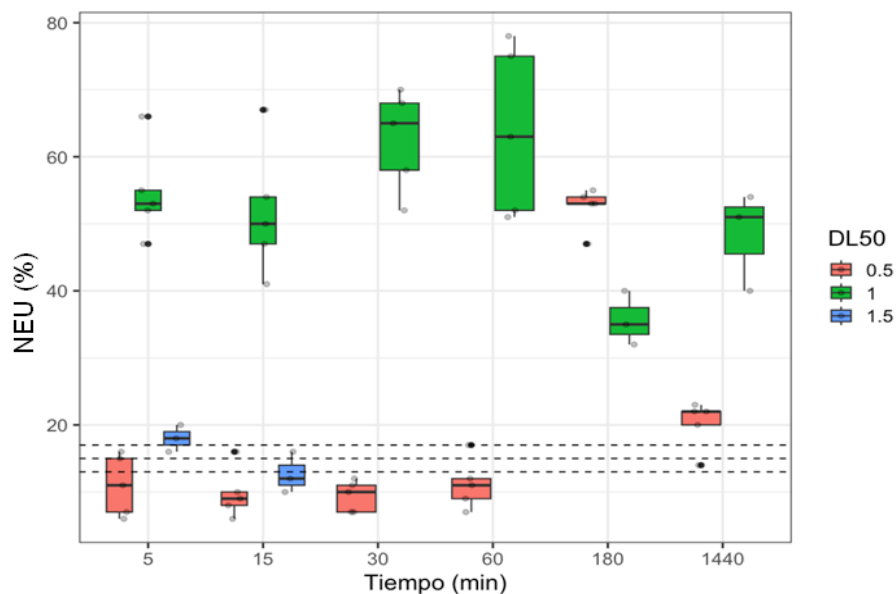


Gráfico 11. Comportamiento de los neutrófilos en ratones después de recibir veneno de *T. festae* en diferentes dosis.
La línea punteada representa la media ($\pm 1DS$) del grupo control.

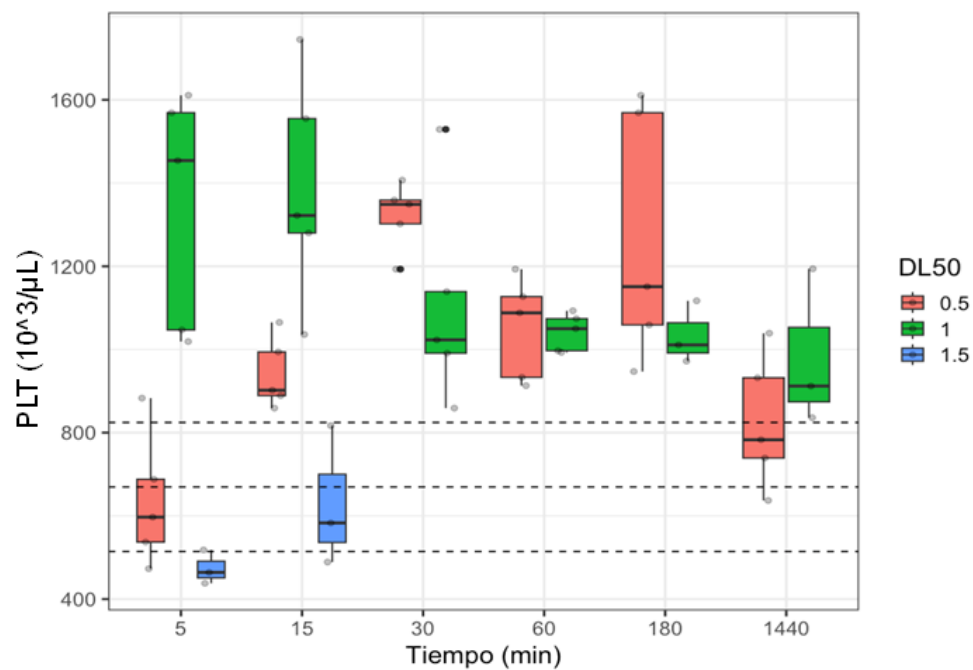


Gráfico 12. Comportamiento de las plaquetas en ratones después de recibir veneno de *T. festae* en diferentes dosis.
La línea punteada representa la media ($\pm 1DS$) del grupo control.

4.1.9. Hemograma completo de ratones inoculados con el veneno de *Centruroides bicolor*

Para determinar alguna alteración hematológica en ratones inoculados con el veneno de *C. bicolor*, se evaluaron las tres dosis (0.5 DL₅₀, 1 DL₅₀ y 1.5 DL₅₀). Para este veneno, logramos tener muestra de todos los tiempos en las 3 dosis trabajadas.

En las Tablas 53, 54 y 55, se presentan los valores obtenidos en el hemograma de ratones inoculados con 0.5 DL₅₀, 1 DL₅₀ y 1.5 DL₅₀, respectivamente, expresados como la media $\pm$ DE y diferencia estadísticamente significativa en comparación con el grupo control según la prueba de Dunnett (*p<0.05).

Tabla 53. Hemograma completo de ratones al inocular veneno de *C. bicolor* a la dosis de 0.5 DL₅₀ (1.70 mg/Kg).

Hemograma completo de ratones al inocular veneno de <i>C. bicolor</i> con la dosis de 0.5 DL ₅₀							
Parámetro	0 min	5 min	15 min	30 min	60 min	180 min	1440 min
GR (10 ⁶ /μL)	7.83 $\pm$ 0.74	7.44 $\pm$ 1.07	8.57 $\pm$ 0.65	8.65 $\pm$ 0.20	7.63 $\pm$ 0.39	7.70 $\pm$ 0.40	7.52 $\pm$ 0.83
HGB (g/dL)	13.8 $\pm$ 1.3	14.3 $\pm$ 1.6	14.9 $\pm$ 1.0	15.0 $\pm$ 0.4	13.8 $\pm$ 0.8	13.7 $\pm$ 0.6	13.4 $\pm$ 1.3
HCT (%)	40.7 $\pm$ 4.1	42.6 $\pm$ 4.0	43.5 $\pm$ 3.9	44.2 $\pm$ 1.0	39.9 $\pm$ 2.5	39.6 $\pm$ 1.8	39.6 $\pm$ 3.6
VCM (fL)	52.0 $\pm$ 3.4	57.6 $\pm$ 2.6	50.7 $\pm$ 0.8	51.1 $\pm$ 0.8	52.3 $\pm$ 2.0	51.5 $\pm$ 2.2	52.7 $\pm$ 1.1
HCM (pg)	17.6 $\pm$ 0.8	19.2 $\pm$ 0.7	17.4 $\pm$ 0.2	17.3 $\pm$ 0.3	18.0 $\pm$ 0.5	17.9 $\pm$ 0.7	17.8 $\pm$ 0.5
CHCM (g/dL)	33.8 $\pm$ 1.3	33.4 $\pm$ 0.7*	34.2 $\pm$ 0.8	33.9 $\pm$ 0.4	34.5 $\pm$ 0.5	34.7 $\pm$ 0.3	33.8 $\pm$ 0.6
ADE (%)	17.1 $\pm$ 1.0	18.3 $\pm$ 0.8	17.2 $\pm$ 0.3	16.8 $\pm$ 0.8	18.3 $\pm$ 1.6	17.7 $\pm$ 1.6	18.5 $\pm$ 1.1
GB 10 ³ /μl	5.9 $\pm$ 1.0	5.3 $\pm$ 0.4	5.4 $\pm$ 1.2	5.2 $\pm$ 0.3	6.7 $\pm$ 1.5	6.8 $\pm$ 1.7	6.4 $\pm$ 0.9
NEU %	15 $\pm$ 2	14 $\pm$ 2	13 $\pm$ 3	14 $\pm$ 3	13 $\pm$ 3	11 $\pm$ 3	13 $\pm$ 2
LIN %	70 $\pm$ 3	71 $\pm$ 1	73 $\pm$ 4	68 $\pm$ 8	67 $\pm$ 5	73 $\pm$ 4	71 $\pm$ 2
MON %	13 $\pm$ 2	13 $\pm$ 2	13 $\pm$ 2	16 $\pm$ 5	19 $\pm$ 4*	15 $\pm$ 1	14 $\pm$ 2
EOS %	2 $\pm$ 1	2 $\pm$ 1	2 $\pm$ 1	2 $\pm$ 1	2 $\pm$ 1	2 $\pm$ 1	2 $\pm$ 1
BAS %	0	0	0	0	0	0	0

Hemograma completo de ratones al inocular veneno de <i>C. bicolor</i> con la dosis de 0.5 DL ₅₀							
PLT	669 ±	839 ±	923 ±	880 ±	884 ±	1102 ±	818 ±
10³/μL	155	160*	78*	82*	42*	60*	101

Resultados expresados como la media ±DE. Diferencia estadísticamente significativa en comparación con el control según la prueba de Dunnett (*p<0.05).

Tabla 54. Hemograma completo de ratones al inocular veneno de *C. bicolor* a la dosis de 1 DL₅₀ (3.4 mg/Kg).

Hemograma completo de ratones al inocular veneno de <i>C. bicolor</i> con la dosis de 1 DL ₅₀							
Parámetro	0 min	5 min	15 min	30 min	60 min	180 min	1440 min
GR (10 ⁶ /μL)	7.83 ± 0.74	7.22 ± 0.49	7.51 ± 0.73	7.44 ± 0.25	6.94 ± 0.70	8.10 ± 1.08	7.11 ± 0.38
HGB (g/dL)	13.8 ± 1.3	14.5 ± 0.7	14.7 ± 1.2	14.5 ± 0.8	13.5 ± 1.0	14.5 ± 0.8	14.1 ± 0.9
HCT (%)	40.7 ± 4.1	44.3 ± 1.8	44.6 ± 4.2	44.2 ± 2.2	41.3 ± 2.1	44.0 ± 1.8	44.1 ± 2.5
VCM (fL)	52.0 ± 3.4	61.5 ± 4.1*	59.4 ± 2.7*	59.3 ± 2.4*	59.8 ± 3.4*	55.4 ± 10.2	62.0 ± 1.8*
HCM (pg)	17.6 ± 0.8	20.2 ± 1.3*	19.6 ± 1.1	19.5 ± 0.9	19.5 ± 0.6	18.3 ± 3.6*	19.8 ± 0.6
CHCM (g/dL)	33.8 ± 1.3	32.8 ± 0.4	33.0 ± 0.6	32.8 ± 0.3	32.7 ± 1.1*	33.0 ± 0.5	31.9 ± 0.3*
ADE (%)	17.1 ± 1.0	19.1 ± 0.7*	18.3 ± 0.7	17.4 ± 1.2	18.0 ± 0.6	18.0 ± 1.1	16.8 ± 1.1
GB 10³/μl	5.9 ± 1.0	8.1 ± 2.1	8.2 ± 1.6*	9.3 ± 3.9*	6.9 ± 2.9	5.6 ± 0.8	4.7 ± 1.3
NEU %	15 ± 2	12 ± 3	23 ± 4*	40 ± 6*	46 ± 4*	14 ± 2	15 ± 3
LIN %	70 ± 3	72 ± 3	61 ± 3*	44 ± 3*	39 ± 6*	70 ± 3	68 ± 2
MON %	13 ± 2	14 ± 2	14 ± 2	14 ± 3	14 ± 3	14 ± 2	15 ± 2
EOS %	2 ± 1	2 ± 1	2 ± 1	2 ± 1	2 ± 1	2 ± 1	1 ± 1
BAS %	0	0	0	0	0	0	0
PLT 10³/μL	669 ± 155	902 ± 125*	940 ± 107*	1043 ± 134*	967 ± 99*	975 ± 59*	796 ± 119

Resultados expresados como la media ±DE. *Diferencia estadísticamente significativa en comparación con el control según la prueba de Dunnett (P<0.05).

Tabla 55. Hemograma completo de ratones al inocular veneno de *C. bicolor* a la dosis de 1.5 DL₅₀ (5.10 mg/Kg).

Hemograma completo de ratones al inocular veneno de <i>C. bicolor</i> con la dosis de 1.5 DL ₅₀							
Parámetro	0 min	5 min	15 min	30 min	60 min	180 min	1440 min
GR (10 ⁶ /μL)	7.83 ± 0.74	8.06 ± 0.36	8.51 ± 0.63	7.52 ± 0.89	8.34 ± 0.50	8.43 ± 0.82	8.13 ± 0.85
HGB (g/dL)	13.8 ± 1.3	15.0 ± 0.6	14.1 ± 1.3	15.1 ± 1.0	15.2 ± 1.2	14.8 ± 1.7	14.5 ± 1.4
HCT (%)	40.7 ± 4.1	45.6 ± 1.9	42.7 ± 3.7	45.4 ± 2.1	46.0 ± 3.6*	45.0 ± 4.3	44.0 ± 3.9
VCM (fL)	52.0 ± 3.4	56.6 ± 2.2	50.6 ± 7.7	61.0 ± 7.6*	55.2 ± 4.4	53.6 ± 4.7	54.5 ± 6.8
HCM (pg)	17.6 ± 0.8	18.7 ± 0.7	16.7 ± 2.5	20.3 ± 2.8	18.2 ± 1.4	17.6 ± 1.5	18.0 ± 2.4
CHCM (g/dL)	33.8 ± 1.3	33.0 ± 0.2	33.0 ± 0.4	33.3 ± 0.8*	33.0 ± 0.5	32.9 ± 0.7	33.0 ± 0.5
ADE (%)	17.1 ± 1.0	17.4 ± 0.7	17.5 ± 0.8	18.8 ± 0.6*	18.9 ± 0.7*	18.5 ± 0.7	18.1 ± 1.0
GB 10³/μl	5.9 ± 1.0	6.8 ± 1.7	6.2 ± 1.1	10.1 ± 0.9*	10.3 ± 0.8*	8.0 ± 1.0*	5.3 ± 0.9
NEU %	15 ± 2	14 ± 3	40 ± 4*	43 ± 4*	39 ± 3*	16 ± 2	16 ± 2
LIN %	70 ± 3	70 ± 2	45 ± 5*	43 ± 5*	47 ± 4*	71 ± 3	71 ± 3
MON %	13 ± 2	13 ± 2	13 ± 3	12 ± 3	12 ± 3	11 ± 2	12 ± 2
EOS %	2 ± 1	2 ± 1	2 ± 1	3 ± 1	2 ± 1	2 ± 1	2 ± 1
BAS %	0	0	0	0	0	0	0
PLT 10³/μL	669 ± 155	705 ± 57	869 ± 112*	1027 ± 58*	1115 ± 96*	921 ± 88*	773 ± 122

Resultados expresados como la media ±DE. Diferencia estadísticamente significativa en comparación con el control según la prueba de Dunnett (*p<0.05).

En los **Gráficos 13, 14, 15 y 16**, se muestra el comportamiento del volumen corpuscular medio, glóbulos blancos, neutrófilos y plaquetas. Estos parámetros obtuvieron una diferencia significativa en 3 o más tiempos de evaluación según la prueba de Dunnett (*p<0.05), por lo que se procedió a realizar un ANOVA de dos factores para tiempo y dosis, encontrándose diferencia significativa (p<0.05) para el factor tiempo en todos los parámetros, mientras que, para el factor dosis no se encontró diferencia significativa (p>0.05) en las plaquetas, sin embargo, para la interacción entre los dos factores (tiempo y dosis) no hubo diferencia significativa (p>0.05) para el volumen corpuscular medio.

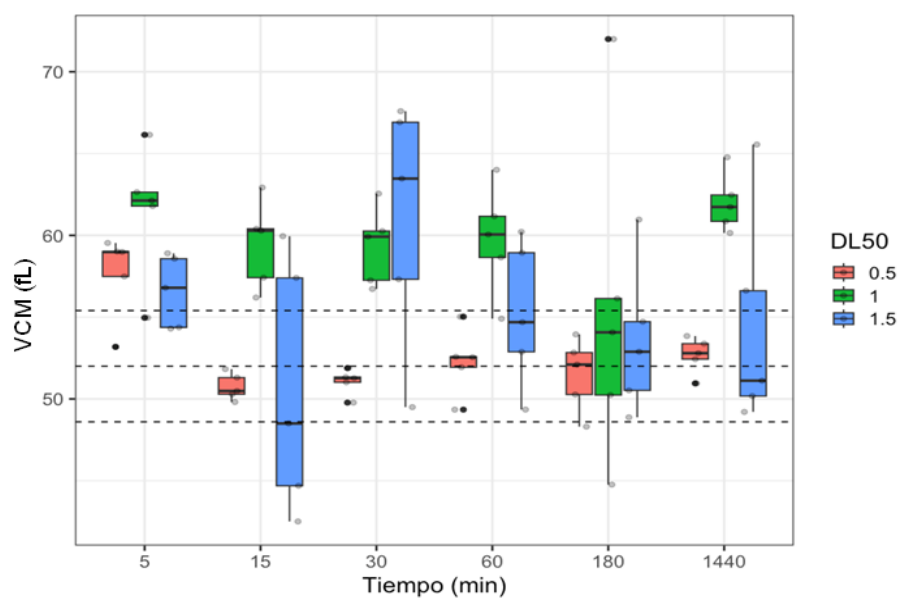


Gráfico 13. Comportamiento del volumen corpuscular medio en ratones después de recibir veneno de *C. bicolor* en diferentes dosis. La línea punteada representa la media ($\pm 1DS$) del grupo control.

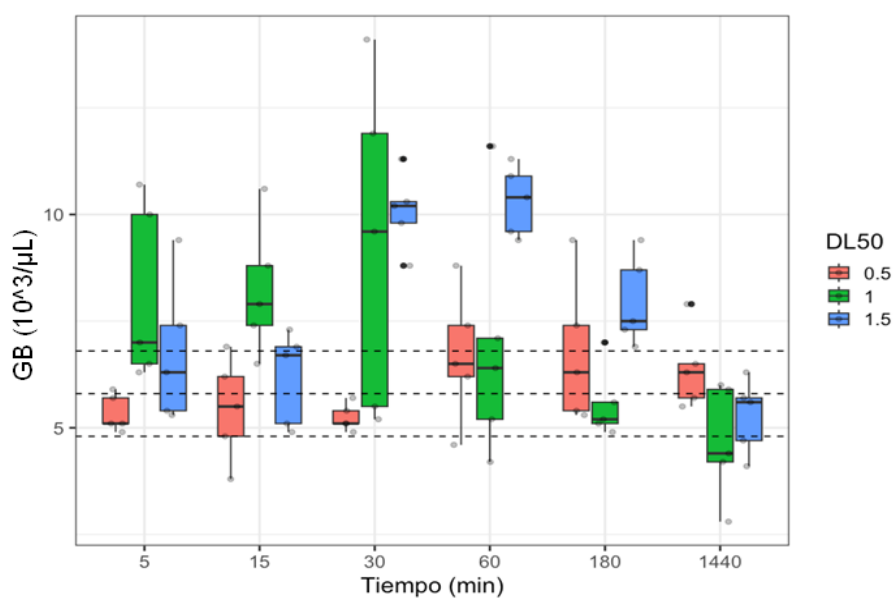


Gráfico 14. Comportamiento de los glóbulos blancos en ratones después de recibir veneno de *C. bicolor* en diferentes dosis. La línea punteada representa la media ($\pm 1DS$) del grupo control.

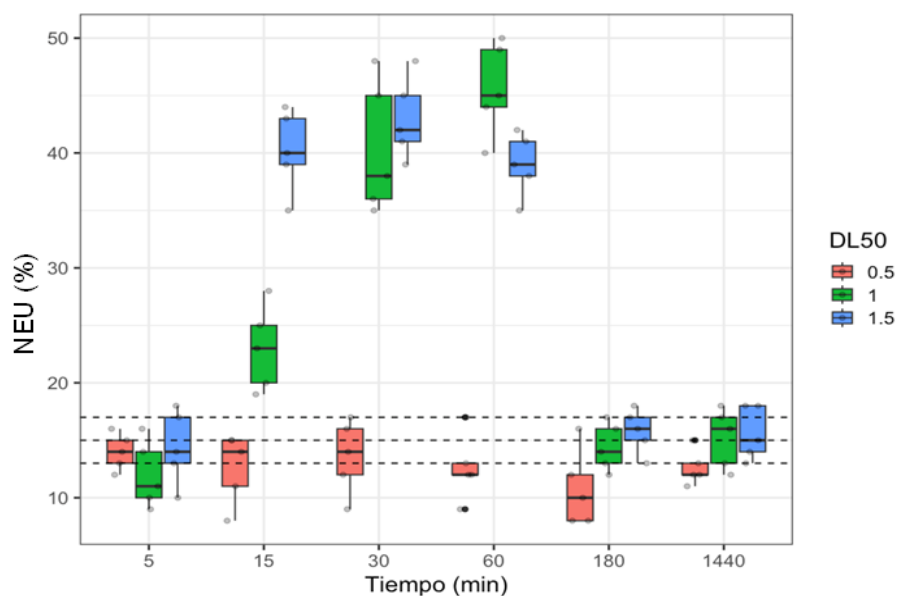


Gráfico 15. Comportamiento de los neutrófilos en ratones después de recibir veneno de *C. bicolor* en diferentes dosis.

La línea punteada representa la media ($\pm 1DS$) del grupo control.

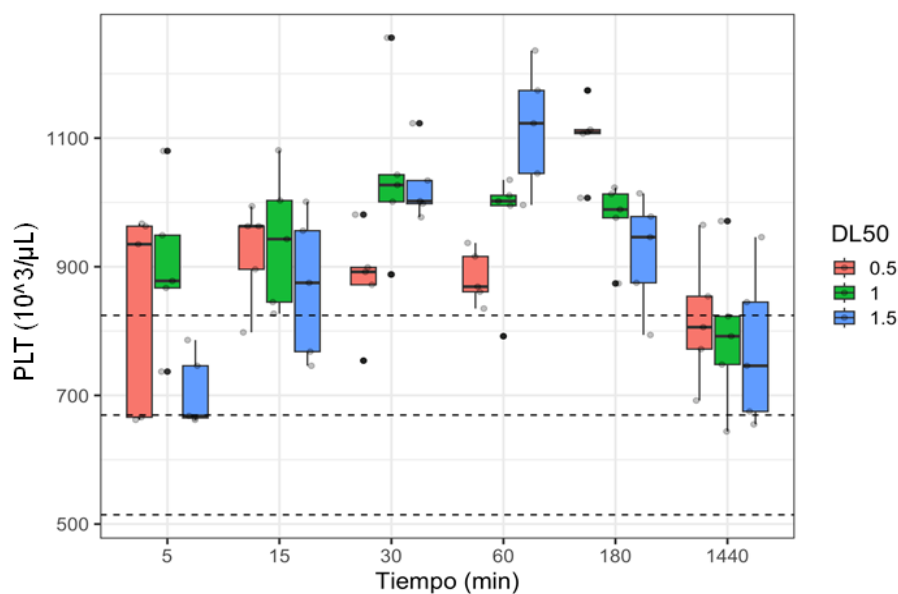


Gráfico 16. Comportamiento de las plaquetas en ratones después de recibir veneno de *C. bicolor* en diferentes dosis.

La línea punteada representa la media ($\pm 1DS$) del grupo control.

4.1.10. Hemograma completo de ratones inoculados con el veneno de *Centruroides limbatus*

Para determinar alguna alteración hematológica en ratones inoculados con el veneno de *C. limbatus*, se evaluaron las tres dosis (0.5 DL₅₀, 1 DL₅₀ y 1.5 DL₅₀). Para la dosis baja 0.5 DL₅₀ y la dosis intermedia 1 DL₅₀ se logró tomar muestras para hacer el hemograma completo hasta las 24 horas, pero para la dosis alta 1.5 DL₅₀ solo se logró hasta los 5 minutos debido a que en este tiempo los ratones habían muerto después de la inyección i.v.

En las Tablas 56, 57 y 58, se presentan los valores obtenidos en el hemograma de ratones inoculados con 0.5 DL₅₀, 1 DL₅₀ y 1.5 DL₅₀, respectivamente, expresados como la media $\pm$ DE y diferencia estadísticamente significativa en comparación con el grupo control, según la prueba de Dunnett (*p<0.05).

Tabla 56. Hemograma completo de ratones al inocular veneno de *C. limbatus* con la dosis de 0.5 DL₅₀ (2.85 mg/Kg).

Hemograma completo de ratones al inocular veneno de <i>C. limbatus</i> con la dosis de 0.5 DL ₅₀							
Parámetro	0 min	5 min	15 min	30 min	60 min	180 min	1440 min
GR (10⁶/μL)	7.83 $\pm$ 0.74	8.15 $\pm$ 0.69	9.03 $\pm$ 1.89	7.71 $\pm$ 1.20	7.25 $\pm$ 0.86	8.65 $\pm$ 1.51	6.25 $\pm$ 0.36*
HGB (g/dL)	13.8 $\pm$ 1.3	15.8 $\pm$ 1.7	15.9 $\pm$ 1.3	14.2 $\pm$ 1.8	13.3 $\pm$ 1.8	15.1 $\pm$ 2.2	12.2 $\pm$ 0.5
HCT (%)	40.7 $\pm$ 4.1	47.9 $\pm$ 4.1	47.2 $\pm$ 3.1	43.7 $\pm$ 4.8	41.2 $\pm$ 4.7	45.1 $\pm$ 6.2	37.5 $\pm$ 1.1
VCM (fL)	52.0 $\pm$ 3.4	59.1 $\pm$ 6.1	54.1 $\pm$ 11.6	57.2 $\pm$ 6.2	56.8 $\pm$ 1.5	54.1 $\pm$ 17.0	60.2 $\pm$ 4.6*
HCM (pg)	17.6 $\pm$ 0.8	19.5 $\pm$ 2.3	18.1 $\pm$ 3.6	18.6 $\pm$ 1.6	18.4 $\pm$ 0.8	18.2 $\pm$ 5.8	19.6 $\pm$ 1.5
CHCM (g/dL)	33.8 $\pm$ 1.3	32.9 $\pm$ 0.8	33.5 $\pm$ 0.7	32.5 $\pm$ 1.3	32.4 $\pm$ 1.1	33.5 $\pm$ 0.7	32.6 $\pm$ 0.7
ADE (%)	17.1 $\pm$ 1.0	18.1 $\pm$ 0.8	17.6 $\pm$ 1.8	17.7 $\pm$ 1.3	19.3 $\pm$ 0.6*	19.0 $\pm$ 1.2	19.4 $\pm$ 0.7
GB 10³/μl	5.9 $\pm$ 1.0	5.3 $\pm$ 0.9	10.4 $\pm$ 2.7*	8.7 $\pm$ 2.2*	7.6 $\pm$ 1.2	8.7 $\pm$ 1.5*	6.0 $\pm$ 1.0
NEU %	15 $\pm$ 2	13 $\pm$ 3	17 $\pm$ 6	16 $\pm$ 3	14 $\pm$ 2	11 $\pm$ 4	12 $\pm$ 1
LIN %	70 $\pm$ 3	75 $\pm$ 3	68 $\pm$ 6	66 $\pm$ 5	70 $\pm$ 5	75 $\pm$ 5	73 $\pm$ 1

Hemograma completo de ratones al inocular veneno de <i>C. limbatus</i> con la dosis de 0.5 DL ₅₀							
Parámetro	0 min	5 min	15 min	30 min	60 min	180 min	1440 min
MON %	13 ± 2	10 ± 4	13 ± 2	16 ± 3	15 ± 5	12 ± 3	14 ± 2
EOS %	2 ± 1	2 ± 1	2 ± 1	2 ± 1	2 ± 1	1 ± 1	1 ± 1
BAS %	0	0	0	0	0	0	0
PLT 10 ³ /μL	669 ± 155	734 ± 195	736 ± 131	750 ± 70	1199 ± 187*	827 ± 118	596 ± 186

Resultados expresados como la media ±DE. Diferencia estadísticamente significativa en comparación con el control según la prueba de Dunnett (*p<0.05).

Tabla 57. Hemograma completo de ratones al inocular veneno de *C. limbatus* con la dosis de 1 DL₅₀ (5.7 mg/Kg).

Hemograma completo de ratones al inocular veneno de <i>C. limbatus</i> con la dosis de 1 DL ₅₀							
Parámetro	0 min	5 min	15 min	30 min	60 min	180 min	1440 min
GR (10 ⁶ /μL)	7.83 ± 0.74	8.17 ± 1.27	7.71 ± 1.42	7.99 ± 1.50	9.43 ± 1.19	7.84 ± 1.11	7.51 ± 0.50
HGB (g/dL)	13.8 ± 1.3	14.2 ± 1.9	13.4 ± 2.3	14.7 ± 2.1	15.1 ± 1.2	14.6 ± 2.3	13.9 ± 1.0
HCT (%)	40.7 ± 4.1	42.4 ± 4.1	39.9 ± 5.9	44.3 ± 5.3	45.1 ± 3.5	42.7 ± 6.1*	42.0 ± 3.2
VCM (fL)	52.0 ± 3.4	52.6 ± 6.9	53.0 ± 10.9	56.6 ± 10.2	48.7 ± 8.8	54.4 ± 1.7*	56.5 ± 0.9
HCM (pg)	17.6 ± 0.8	17.6 ± 2.6	17.8 ± 4.1	18.7 ± 3.6	16.3 ± 3.0	18.6 ± 0.6*	18.5 ± 0.9
CHCM (g/dL)	33.8 ± 1.3	33.5 ± 1.3	33.6 ± 1.1	33.0 ± 1.2	33.4 ± 0.2	34.2 ± 0.7	32.7 ± 1.1
ADE (%)	17.1 ± 1.0	19.5 ± 0.7	20.1 ± 1.2	19.2 ± 0.9	19.9 ± 0.9	19.5 ± 1.1	19.3 ± 0.9
GB 10 ³ /μl	5.9 ± 1.0	4.8 ± 0.7	11.9 ± 3.3*	12.2 ± 1.9*	10.3 ± 2.9*	6.0 ± 1.0	4.4 ± 0.3
NEU %	15 ± 2	11 ± 3	14 ± 5	37 ± 6*	39 ± 4*	17 ± 3	11 ± 3
LIN %	70 ± 3	76 ± 3	72 ± 6	47 ± 6*	43 ± 6*	64 ± 2*	73 ± 1
MON %	13 ± 2	11 ± 1	12 ± 3	15 ± 2	16 ± 3	17 ± 4	15 ± 2
EOS %	2 ± 1	2 ± 1	2 ± 1	1	2 ± 1	2 ± 1	2 ± 1
BAS %	0	0	0	0	0	0	0
PLT 10 ³ /μL	669 ± 155	744 ± 88	605 ± 93	714 ± 120	751 ± 106	808 ± 49	779 ± 58

Resultados expresados como la media ±DE. Diferencia estadísticamente significativa en comparación con el control según la prueba de Dunnett (*p<0.05).

Tabla 58. Hemograma completo de ratones al inocular veneno de *C. limbatus* con la dosis de 1.5 DL₅₀ (8.55 mg/Kg).

Hemograma completo de ratones al inocular veneno de <i>C. limbatus</i> con la dosis de 1.5 DL₅₀		
Parámetro	0 min	5 min
GR (10⁶/μL)	7.83 ± 0.74	7.45 ± 1.91
HGB (g/dL)	13.8 ± 1.3	13.7 ± 1.0
HCT (%)	40.7 ± 4.1	41.7 ± 2.8
VCM (fL)	52.0 ± 3.4	58.5 ± 12.6
HCM (pg)	17.6 ± 0.8	19.2 ± 4.2
CHCM (g/dL)	33.8 ± 1.3	32.7 ± 0.7
ADE (%)	17.1 ± 1.0	19.8 ± 1.0*
GB 10³/μl	5.9 ± 1.0	7.1 ± 2.0
NEU %	15 ± 2	15 ± 4
LIN %	70 ± 3	70 ± 5
MON %	13 ± 2	14 ± 2
EOS %	2 ± 1	2 ± 1
BAS %	0	0
PLT 10³/μL	669 ± 155	637 ± 156

Resultados expresados como la media ±DE. Diferencia estadísticamente significativa en comparación con el control según la prueba de t de Student (*p<0.05).

En el **Gráfico 17**, se muestra el parámetro de glóbulos blancos como aquel que obtuvo una diferencia significativa en 3 o más tiempos de evaluación según la prueba de Dunnett (*p<0.05), por lo que se procedió a realizar un ANOVA de dos factores para tiempo y dosis, encontrándose diferencia significativa (p<0.05) para el factor tiempo, mientras que, para el factor dosis no se encontró diferencia significativa (p>0.05), sin embargo, para la interacción entre los dos factores (tiempo y dosis) hubo diferencia significativa (p<0.05).

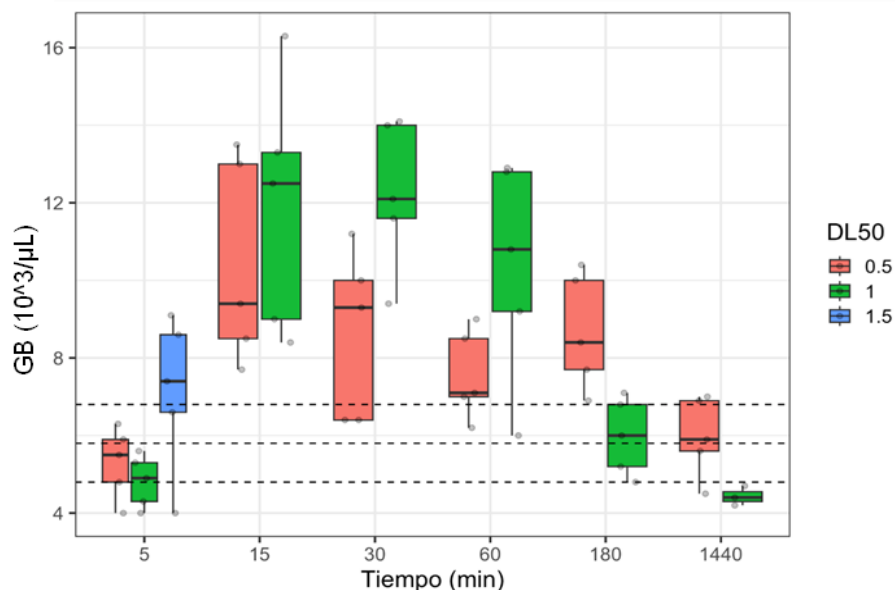


Gráfico 17. Comportamiento de los glóbulos blancos en ratones después de recibir veneno de *C. limbatus* en diferentes dosis.
La línea punteada representa la media ($\pm 1DS$) del grupo control.

4.1.11. Química sanguínea de ratones inoculados con el veneno de *Tityus (Atreus) sp.*

En los ensayos de química sanguínea realizados para determinar de forma indirecta alguna alteración en órganos esenciales en ratones inoculados con el veneno de *Tityus (Atreus) sp.*, se evaluaron las tres dosis ensayadas (0.5 DL₅₀, 1 DL₅₀ y 1.5 DL₅₀). Para la dosis baja 0.5 DL₅₀ se logró tomar muestras para hacer la química sanguínea hasta las 24 horas, pero para la dosis intermedia 1 DL₅₀ solo se pudo tomar muestra de sangre hasta los 15 minutos y para la dosis alta 1.5 DL₅₀ solo se logró hasta los 5 minutos, debido a que en este tiempo los ratones habían muerto después de la inyección i.v.

En las **Tablas 59, 60 y 61**, se presentan los valores obtenidos en la química sanguínea de ratones inoculados con 0.5 DL₅₀, 1 DL₅₀ y 1.5 DL₅₀, respectivamente, expresados como la media $\pm$ DE y diferencia estadísticamente significativa en comparación con el grupo control, según la prueba de Dunnett (* $p < 0.05$).

Tabla 59. Química sanguínea de ratones al inocular veneno de *Tityus (Atreus) sp.* con la dosis de 0.5 DL₅₀ (2.1 mg/Kg).

Química sanguínea de ratones al inocular veneno de <i>Tityus (Atreus) sp.</i> con la dosis de 0.5 DL ₅₀							
Parámetro	0 min	5 min	15 min	30 min	60 min	180 min	1440 min
Glucosa (mg/dL)	200.9 ± 29.3	203.9 ± 21.4	214.5 ± 49.1	292.0 ± 56.8*	300.0 ± 61.1*	203.5 ± 51.2	192.7 ± 27.4
Amilasa (U/L)	566 ± 70	605 ± 51	657 ± 56*	693 ± 50*	1764 ± 191*	714 ± 86*	623 ± 56
CK (U/L)	203 ± 71	193 ± 30	296 ± 82*	1323 ± 88*	1834 ± 74*	510 ± 209*	208 ± 47
CK-MB (U/L)	165 ± 38	342 ± 68*	407 ± 135*	416 ± 95*	551 ± 174*	400 ± 122*	194 ± 48
Creatinina (mg/dL)	0.47 ± 0.05	0.53 ± 0.04*	0.53 ± 0.09*	0.57 ± 0.06*	0.62 ± 0.07*	0.50 ± 0.04	0.50 ± 0.04
Nitrógeno de urea (mg/dL)	15.5 ± 2.9	16.5 ± 3.5	16.6 ± 2.4	23.0 ± 4.8*	21.6 ± 3.6*	16.2 ± 2.3	15.5 ± 3.6
Sodio (mmol/L)	145 ± 8	149 ± 6	144 ± 3	146 ± 7	158 ± 7*	158 ± 6*	156 ± 3*
Potasio (mmol/L)	5.84 ± 1.16	6.21 ± 0.77	6.58 ± 0.33	6.66 ± 0.82	4.54 ± 1.28*	5.02 ± 0.89	6.67 ± 1.05

Resultados expresados como la media ±DE. Diferencia estadísticamente significativa en comparación con el control según la prueba de Dunnett (*p<0.05).

Tabla 60. Química sanguínea de ratones al inocular veneno de *Tityus (Atreus) sp.* con la dosis de 1 DL₅₀ (4.2 mg/Kg).

Química sanguínea de ratones al inocular veneno de <i>Tityus (Atreus) sp.</i> con la dosis de 1 DL ₅₀			
Parámetro	0 min	5 min	15 min
Glucosa (mg/dL)	200.9 ± 29.3	197.2 ± 53.2	181.2 ± 37.2
Amilasa (U/L)	566 ± 70	594 ± 55	584 ± 49
CK (U/L)	203 ± 71	268 ± 47	442 ± 99*
CK-MB (U/L)	165 ± 38	342 ± 68*	473 ± 118*
Creatinina (mg/dL)	0.47 ± 0.05	0.53 ± 0.04*	0.66 ± 0.06*
Nitrógeno de urea (mg/dL)	15.5 ± 2.9	16.5 ± 3.5	15.4 ± 3.3
Sodio (mmol/L)	145 ± 8	149 ± 6	146 ± 8
Potasio (mmol/L)	5.84 ± 1.16	6.21 ± 0.77	6.36 ± 0.96

Resultados expresados como la media ±DE. Diferencia estadísticamente significativa en comparación con el control según la prueba de Dunnett (*p<0.05).

Tabla 61. Química sanguínea de ratones al inocular veneno de *Tityus (Atreus) sp.* con la dosis de 1.5 DL₅₀ (6.3 mg/Kg).

Química sanguínea de ratones al inocular veneno de <i>Tityus (Atreus) sp.</i> con la dosis de 1.5 DL₅₀		
Parámetro	0 min	5 min
Glucosa (mg/dL)	200.9 ± 29.3	203.3 ± 55.0
Amilasa (U/L)	566 ± 70	541 ± 54
CK (U/L)	203 ± 71	579 ± 86*
CK-MB (U/L)	165 ± 38	254 ± 64*
Creatinina (mg/dL)	0.47 ± 0.05	0.56 ± 0.04
Nitrógeno de urea (mg/dL)	15.5 ± 2.9	13.5 ± 2.3
Sodio (mmol/L)	145 ± 8	152 ± 3*
Potasio (mmol/L)	5.84 ± 1.16	5.88 ± 1.13

Resultados expresados como la media ±DE. Diferencia estadísticamente significativa en comparación con el control según la prueba de t de Student (*p<0.05).

En los **Gráficos 18, 19, 20, 21, 22, 23 y 24**, se muestran el comportamiento de la glucosa, amilasa, CK, CK-MB, creatinina, nitrógeno de urea y sodio. Estos parámetros que obtuvieron una diferencia significativa en 3 o más tiempos de evaluación según la prueba de Dunnett (*p<0.05), por lo que se procedió a realizar un ANOVA de dos factores para tiempo y dosis, encontrándose diferencia significativa (p<0.05) para el factor tiempo en todos los parámetros, mientras que, para el factor dosis se encontró diferencia significativa (p<0.05) en la CK y la creatinina, sin embargo, para la interacción entre los dos factores (tiempo y dosis) solo hubo diferencia significativa (p<0.05) para la creatinina.

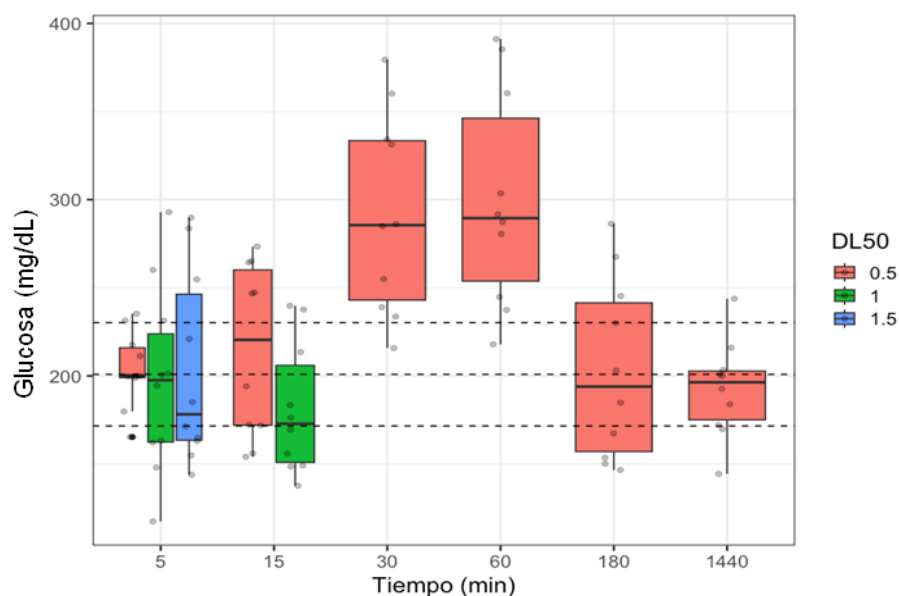


Gráfico 18. Comportamiento de la glucosa en ratones después de recibir veneno de *Tityus (Atrous) sp.* en diferentes dosis.
La línea punteada representa la media ($\pm 1DS$) del grupo control.

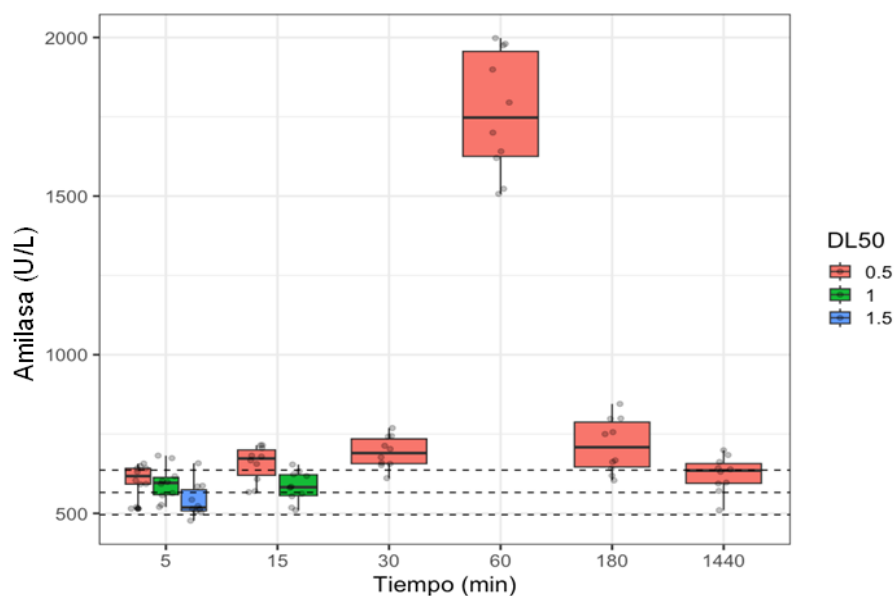


Gráfico 19. Comportamiento de la amilasa en ratones después de recibir veneno de *Tityus (Atrous) sp.* en diferentes dosis.
La línea punteada representa la media ($\pm 1DS$) del grupo control.

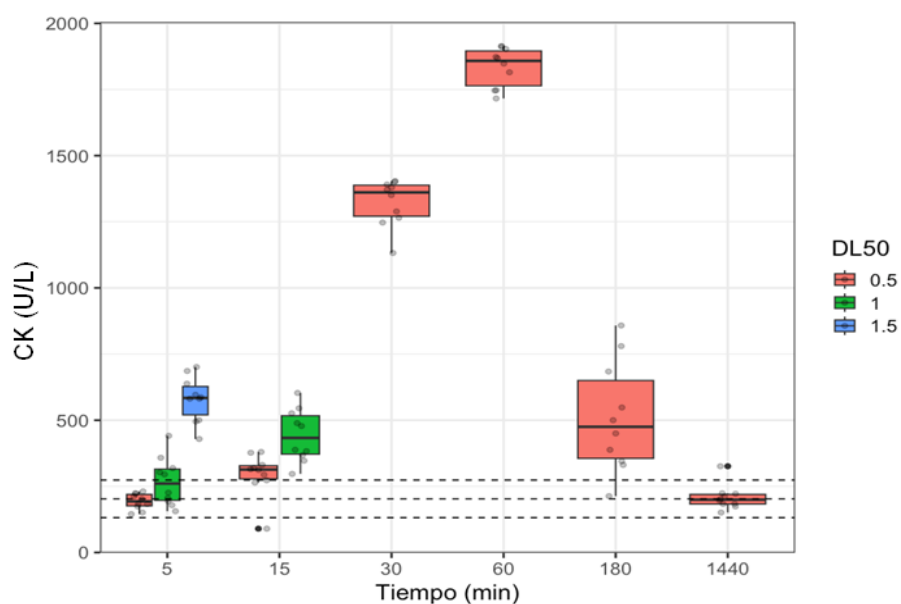


Gráfico 20. Comportamiento de la CK en ratones después de recibir veneno de *Tityus (Atrous) sp.* en diferentes dosis.
La línea punteada representa la media ($\pm 1DS$) del grupo control.

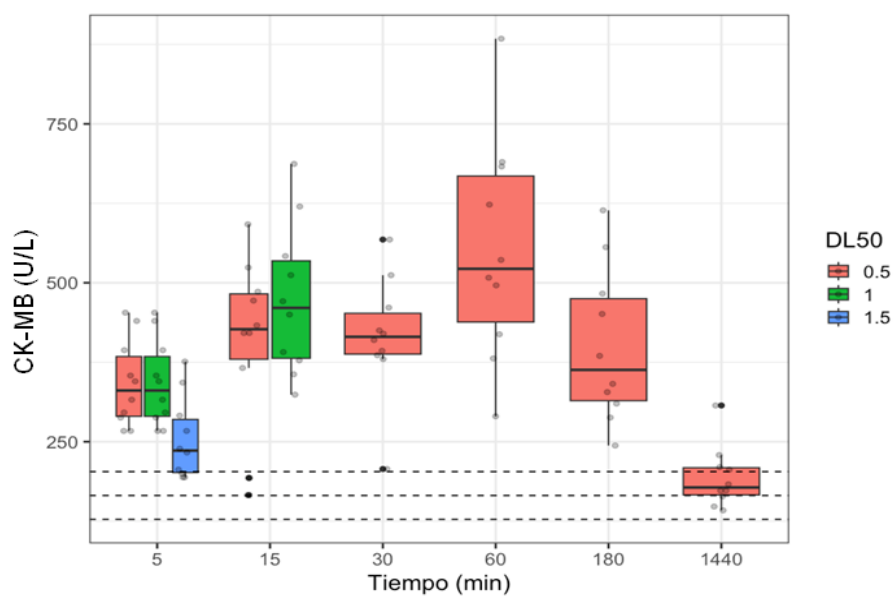


Gráfico 21. Comportamiento de la CK-MB en ratones después de recibir veneno de *Tityus (Atrous) sp.* en diferentes dosis.
La línea punteada representa la media ($\pm 1DS$) del grupo control.

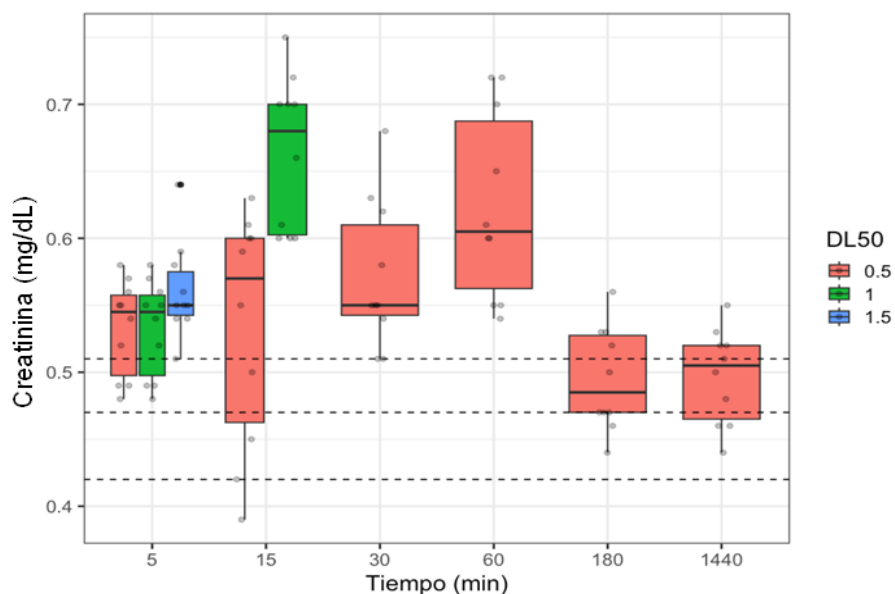


Gráfico 22. Comportamiento de la creatinina en ratones después de recibir veneno de *Tityus (Atrous) sp.* en diferentes dosis.
La línea punteada representa la media ($\pm 1DS$) del grupo control.

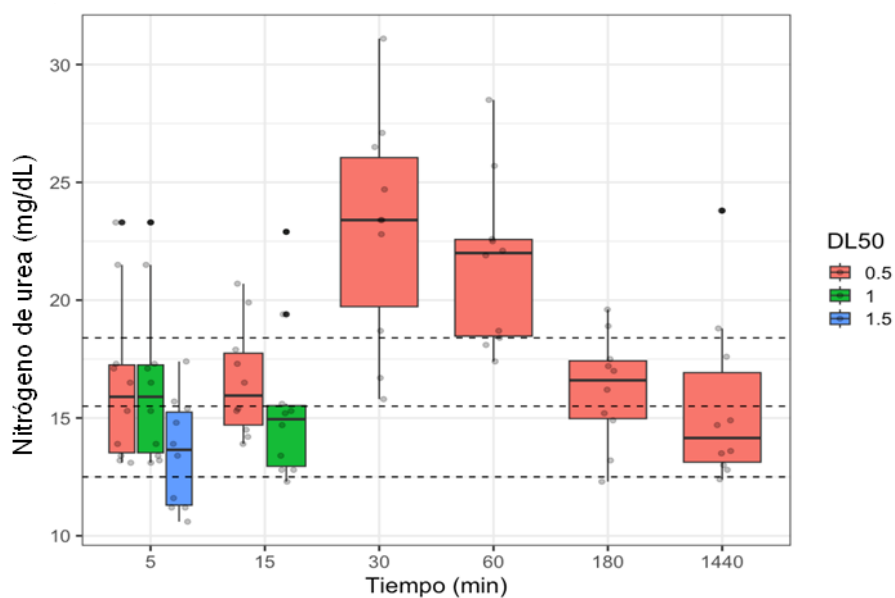


Gráfico 23. Comportamiento del nitrógeno de urea en ratones después de recibir veneno de *Tityus (Atrous) sp.* en diferentes dosis.
La línea punteada representa la media ($\pm 1DS$) del grupo control.

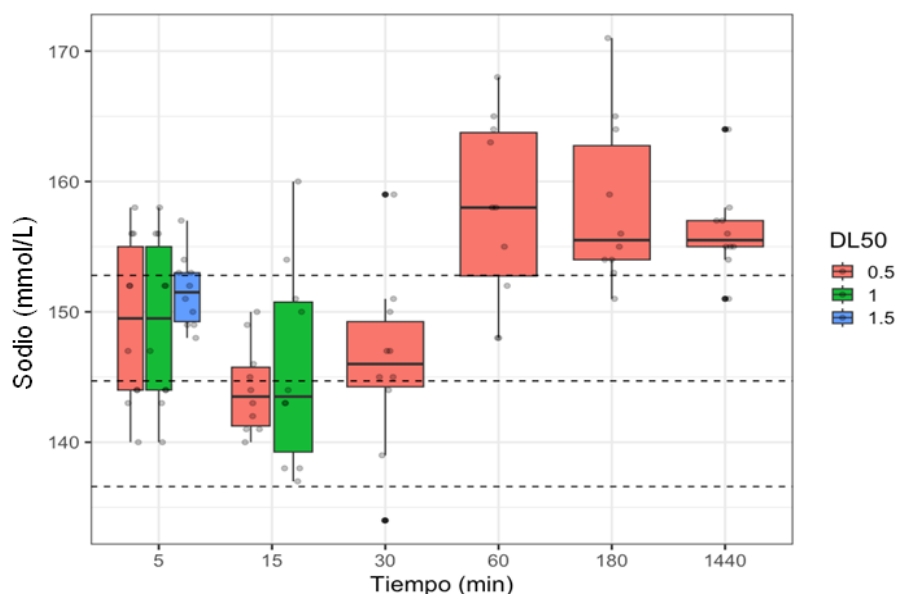


Gráfico 24. Comportamiento del sodio en ratones después de recibir veneno de *Tityus (Atreus) sp.* en diferentes dosis.
La línea punteada representa la media ($\pm 1DS$) del grupo control.

4.1.12. Química sanguínea de ratones inoculados con el veneno de *Tityus (Atreus) championi*

En los ensayos de química sanguínea realizados para determinar de forma indirecta alguna alteración en órganos esenciales en ratones inoculados con el veneno de *T. championi*, se evaluaron las tres dosis ensayadas (0.5 DL₅₀, 1 DL₅₀ y 1.5 DL₅₀). Para la dosis baja 0.5 DL₅₀ y la dosis intermedia 1 DL₅₀ se logró tomar muestras para hacer la química sanguínea hasta las 24 horas, pero para la dosis alta 1.5 DL₅₀ solo se logró hasta los 5 minutos, debido a que en este tiempo los ratones habían muerto después de la inyección i.v.

En las **Tablas 62, 63 y 64**, se presentan los valores obtenidos en la química sanguínea de ratones inoculados con 0.5 DL₅₀, 1 DL₅₀ y 1.5 DL₅₀, respectivamente, expresados como la media $\pm$ DE y diferencia estadísticamente significativa en comparación con el grupo control, según la prueba de Dunnett (* $p < 0.05$).

Tabla 62. Química sanguínea de ratones al inocular veneno de *T. championi* con la dosis de 0.5 DL₅₀ (1.45 mg/Kg).

Química sanguínea de ratones al inocular veneno de <i>T. championi</i> con la dosis de 0.5 DL ₅₀							
Parámetro	0 min	5 min	15 min	30 min	60 min	180 min	1440 min
Glucosa (mg/dL)	200.9 ± 29.3	270.5 ± 35.2*	312.0 ± 34.0*	325.9 ± 40.1*	313.5 ± 64.8*	221.7 ± 20.2	181.3 ± 11.1
Amilasa (U/L)	566 ± 70	578 ± 67	745 ± 62*	772 ± 83*	570 ± 87	503 ± 45	570 ± 77
CK (U/L)	203 ± 71	361 ± 71*	366 ± 70*	310 ± 61*	311 ± 86*	305 ± 90	186 ± 16
CK-MB (U/L)	165 ± 38	503 ± 109*	501 ± 67*	374 ± 63*	373 ± 89*	229 ± 39	147 ± 16
Creatinina (mg/dL)	0.47 ± 0.05	0.63 ± 0.03*	0.63 ± 0.05*	0.62 ± 0.07*	0.62 ± 0.06*	0.62 ± 0.08*	0.61 ± 0.04*
Nitrógeno de urea (mg/dL)	15.5 ± 2.9	13.4 ± 2.8	19.3 ± 1.9*	23.7 ± 2.0*	22.4 ± 2.5*	17.8 ± 3.7	17.6 ± 1.9
Sodio (mmol/L)	145 ± 8	150 ± 5*	164 ± 5*	161 ± 5*	151 ± 3*	149 ± 3*	150 ± 2*
Potasio (mmol/L)	5.84 ± 1.16	5.97 ± 0.67	5.82 ± 0.49	5.12 ± 0.71	4.91 ± 0.79*	6.32 ± 0.58	6.49 ± 0.72

Resultados expresados como la media ±DE. Diferencia estadísticamente significativa en comparación con el control según la prueba de Dunnett (*p<0.05).

Tabla 63. Química sanguínea de ratones al inocular veneno de *T. championi* a la dosis de 1 DL₅₀ (2.9 mg/Kg).

Química sanguínea de ratones al inocular veneno de <i>T. championi</i> con la dosis de 1 DL ₅₀							
Parámetro	0 min	5 min	15 min	30 min	60 min	180 min	1440 min
Glucosa (mg/dL)	200.9 ± 29.3	221.6 ± 18.7	262.5 ± 25.7*	280.7 ± 72.4*	258.3 ± 84.9*	200.6 ± 31.9	178.3 ± 22.4
Amilasa (U/L)	566 ± 70	555 ± 86	672 ± 214	982 ± 214*	787 ± 225*	1175 ± 250*	877 ± 170
CK (U/L)	203 ± 71	361 ± 150*	235 ± 56	378 ± 126*	614 ± 337*	1436 ± 123*	218 ± 54
CK-MB (U/L)	165 ± 38	408 ± 32*	532 ± 62*	589 ± 224*	555 ± 274*	612 ± 342*	148 ± 42
Creatinina (mg/dL)	0.47 ± 0.05	0.69 ± 0.05*	0.87 ± 0.16*	0.82 ± 0.06*	0.65 ± 0.5*	0.66 ± 0.08*	0.61 ± 0.06*
Nitrógeno de urea (mg/dL)	15.5 ± 2.9	23.8 ± 3.6*	24.7 ± 3.6*	29.4 ± 5.2*	29.6 ± 5.2*	42.2 ± 8.5*	19.2 ± 3.3

Química sanguínea de ratones al inocular veneno de <i>T. championi</i> con la dosis de 1 DL ₅₀							
Parámetro	0 min	5 min	15 min	30 min	60 min	180 min	1440 min
Sodio (mmol/L)	145 ± 8	140 ± 4*	142 ± 3	152 ± 8*	154 ± 3*	155 ± 2*	151 ± 7
Potasio (mmol/L)	5.84 ± 1.16	6.48 ± 0.67	7.27 ± 0.60*	7.47 ± 0.45*	5.27 ± 1.51	5.47 ± 0.50	7.54 ± 0.53*

Resultados expresados como la media ±DE. Diferencia estadísticamente significativa en comparación con el control según la prueba de Dunnett (*p<0.05).

Tabla 64. Química de ratones al inocular veneno de *T. championi* con la dosis de 1.5 DL₅₀ (4.35 mg/Kg).

Química de ratones al inocular veneno de <i>T. championi</i> con la dosis de 1.5 DL ₅₀		
Parámetro	0 min	5 min
Glucosa (mg/dL)	200.9 ± 29.3	195.3 ± 30.7
Amilasa (U/L)	566 ± 70	583 ± 15
CK (U/L)	203 ± 71	165 ± 15
CK-MB (U/L)	165 ± 38	161 ± 15
Creatinina (mg/dL)	0.47 ± 0.05	0.63 ± 0.06*
Nitrógeno de urea (mg/dL)	15.5 ± 2.9	17.7 ± 1.5
Sodio (mmol/L)	145 ± 8	162 ± 8*
Potasio (mmol/L)	5.84 ± 1.16	7.44 ± 0.46*

Resultados expresados como la media ±DE. Diferencia estadísticamente significativa en comparación con el control según la prueba de t de Student (*p<0.05).

En los Gráficos 25, 26, 27, 28, 29, 30 y 31, se muestran el comportamiento de la glucosa, amilasa, CK, CK-MB, creatinina, nitrógeno de urea y sodio. Estos parámetros que obtuvieron una diferencia significativa en 3 o más tiempos de evaluación según la prueba de Dunnett (*p<0.05), por lo que se procedió a realizar un ANOVA de dos factores para tiempo y dosis, encontrándose diferencia significativa (p<0.05) tanto para el factor tiempo como para el factor dosis, en todos los parámetros, mientras que, para la interacción entre los dos factores (tiempo y dosis) no hubo diferencia significativa (p>0.05) para la glucosa.

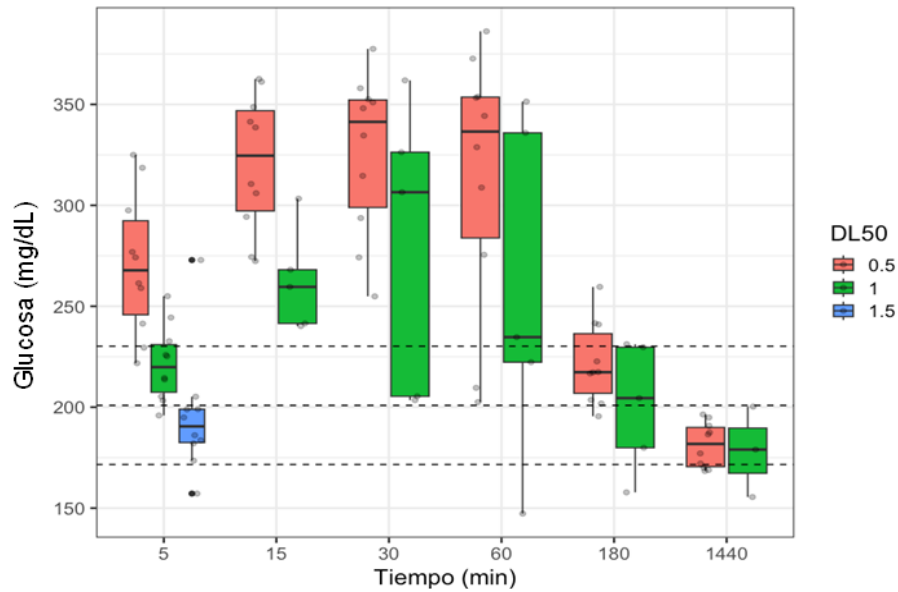


Gráfico 25. Comportamiento de la glucosa en ratones después de recibir veneno de *T. championi* en diferentes dosis.
La línea punteada representa la media (± 1 DS) del grupo control.

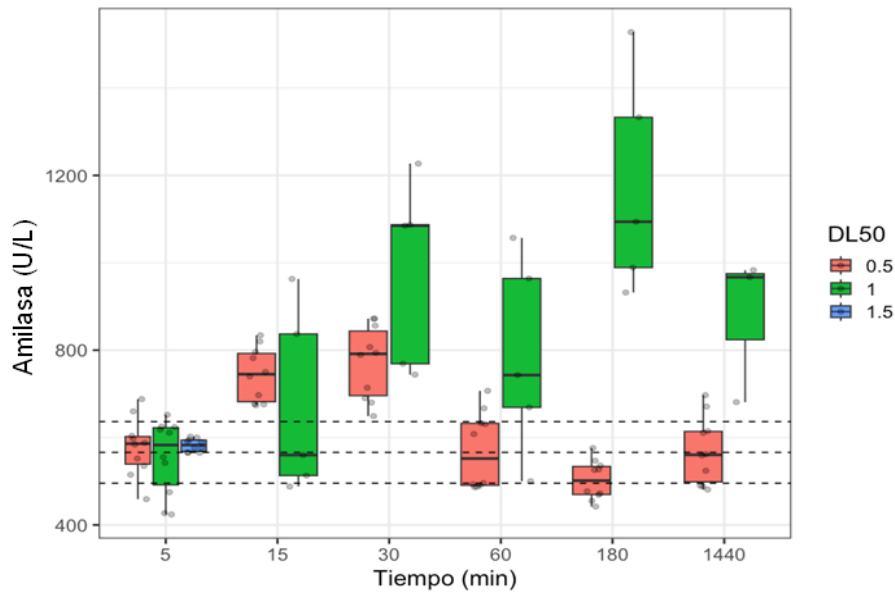


Gráfico 26. Comportamiento de la amilasa en ratones después de recibir veneno de *T. championi* en diferentes dosis.
La línea punteada representa la media (± 1 DS) del grupo control.

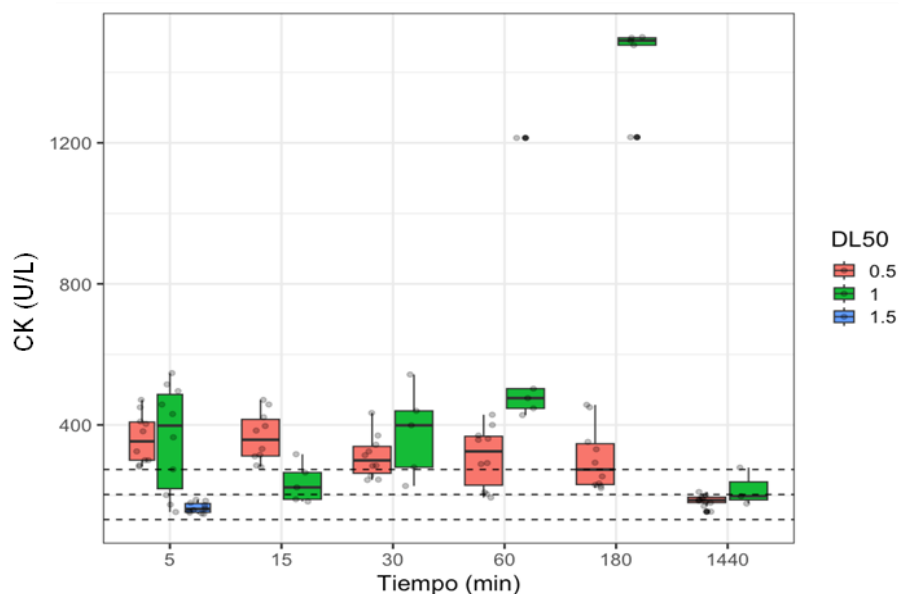


Gráfico 27. Comportamiento de la CK en ratones después de recibir veneno de *T. championi* en diferentes dosis.
La línea punteada representa la media ($\pm 1DS$) del grupo control.

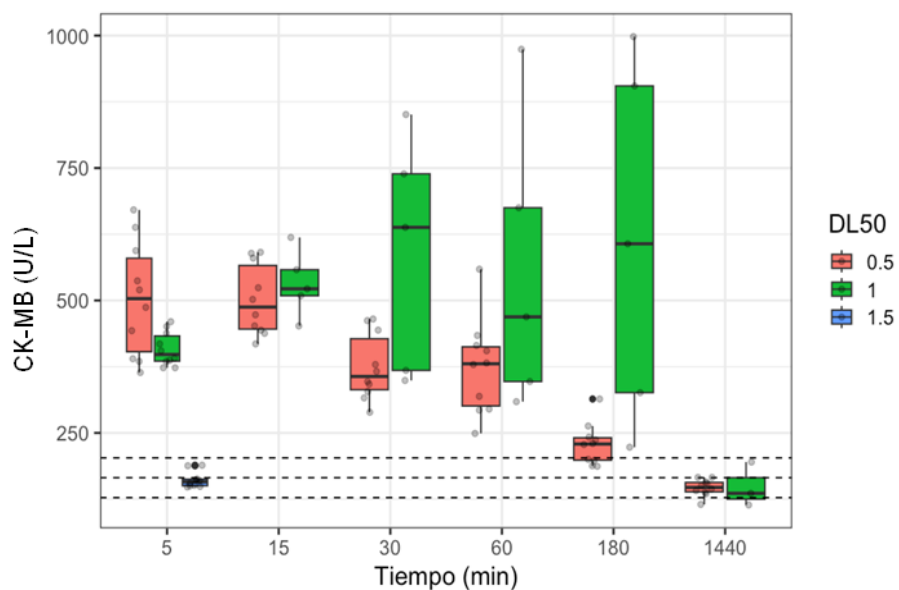


Gráfico 28. Comportamiento de la CK-MB en ratones después de recibir veneno de *T. championi* en diferentes dosis.
La línea punteada representa la media ($\pm 1DS$) del grupo control.

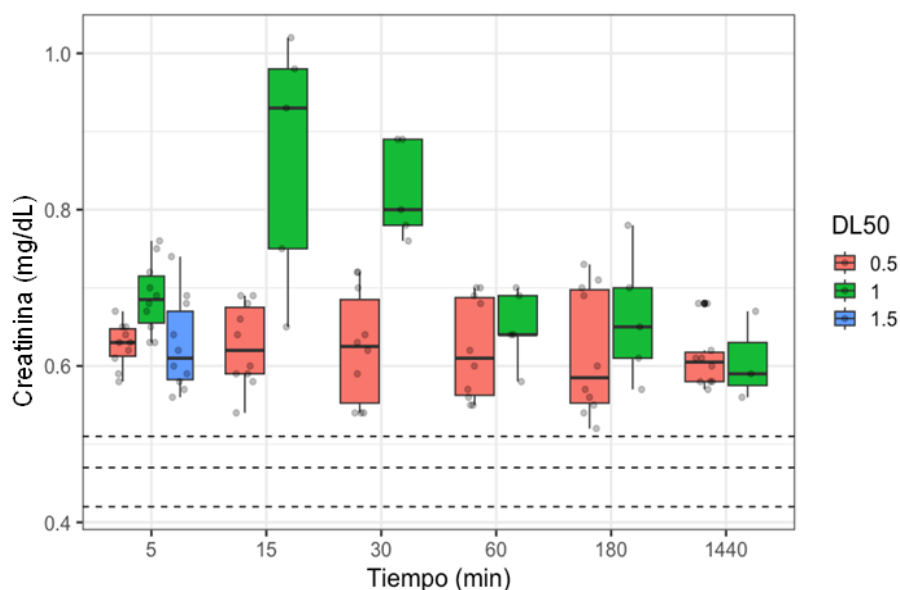


Gráfico 29. Comportamiento de la creatinina en ratones después de recibir veneno de *T. championi* en diferentes dosis.
La línea punteada representa la media (± 1 DS) del grupo control.

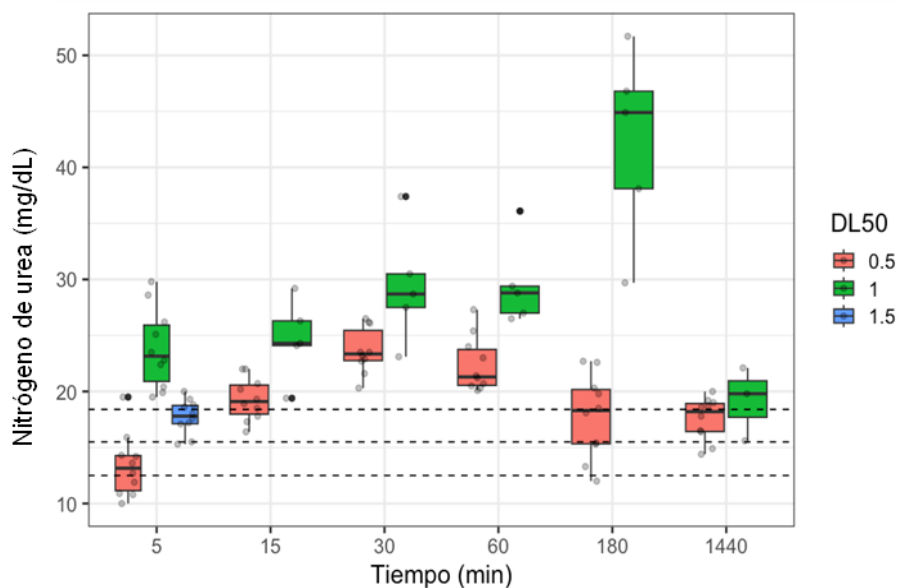


Gráfico 30. Comportamiento del nitrógeno de urea en ratones después de recibir veneno de *T. championi* en diferentes dosis.
La línea punteada representa la media (± 1 DS) del grupo control.

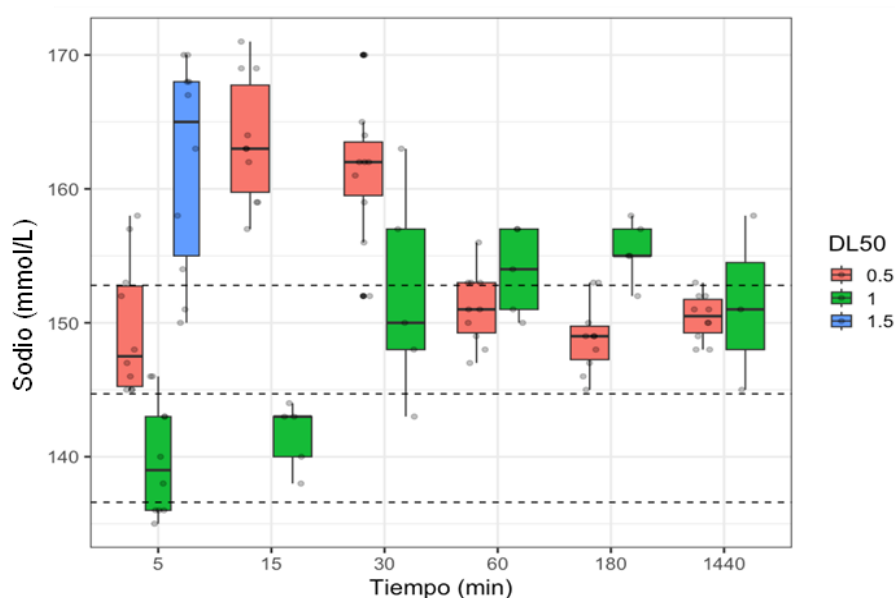


Gráfico 31. Comportamiento del sodio en ratones después de recibir veneno de *T. championi* en diferentes dosis.
La línea punteada representa la media ($\pm 1DS$) del grupo control.

4.1.13. Química sanguínea de ratones inoculados con el veneno de *Tityus (Atreus) festae*

En los ensayos de química sanguínea realizados para determinar de forma indirecta alguna alteración en órganos esenciales en ratones inoculados con el veneno de *T. festae*, se evaluaron las tres dosis (0.5 DL₅₀, 1 DL₅₀ y 1.5 DL₅₀). Para la dosis baja 0.5 DL₅₀ y la dosis intermedia 1 DL₅₀ se logró tomar muestras para hacer la química sanguínea hasta las 24 horas, para la dosis alta 1.5 DL₅₀ solo se logró hasta los 15 minutos, debido a que en este tiempo los ratones habían muerto después de la inyección i.v.

En las **Tablas 65, 66 y 67**, se presentan los valores obtenidos en la química sanguínea ratones inoculados con 0.5 DL₅₀, 1 DL₅₀ y 1.5 DL₅₀, respectivamente, expresados como la media $\pm$ DE y diferencia estadísticamente significativa en comparación con el grupo control, según la prueba de Dunnett (* $p < 0.05$).

Tabla 65. Química sanguínea de ratones al inocular veneno de *T. festae* con la dosis de 0.5 DL₅₀ (2.45 mg/Kg).

Química sanguínea de ratones al inocular veneno de <i>T. festae</i> con la dosis de 0.5 DL ₅₀							
Parámetro	0 min	5 min	15 min	30 min	60 min	180 min	1440 min
Glucosa (mg/dL)	200.9 ± 29.3	235 ± 24.8	290.8 ± 47.3*	271.5 ± 62.7*	290.4 ± 47.6*	167.4 ± 44.8	176.8 ± 33.8
Amilasa (U/L)	566 ± 70	649 ± 87	658 ± 67*	744 ± 118*	657 ± 78*	642 ± 57	721 ± 72*
CK (U/L)	203 ± 71	547 ± 131*	658 ± 159*	1283 ± 193*	480 ± 188*	510 ± 209*	411 ± 186*
CK-MB (U/L)	165 ± 38	329 ± 69*	252 ± 51*	296 ± 44*	322 ± 58*	224 ± 73	161 ± 24
Creatinina (mg/dL)	0.47 ± 0.05	0.66 ± 0.07*	0.64 ± 0.07*	0.69 ± 0.10*	0.67 ± 0.07*	0.53 ± 0.05	0.53 ± 0.04
Nitrógeno de urea (mg/dL)	15.5 ± 2.9	19.1 ± 3.5	15.4 ± 3.0	23.4 ± 5.1*	27.7 ± 5.0*	29.6 ± 7.9*	18.2 ± 3.8
Sodio (mmol/L)	145 ± 8	150 ± 8	151 ± 7	154 ± 3*	162 ± 11*	149 ± 10	147 ± 2
Potasio (mmol/L)	5.84 ± 1.16	5.50 ± 0.61	6.04 ± 0.73	4.91 ± 0.53*	5.38 ± 0.59	4.29 ± 0.74*	7.26 ± 0.70*

Resultados expresados como la media ±DE. Diferencia estadísticamente significativa en comparación con el control según la prueba de Dunnett (*p<0.05).

Tabla 66. Química sanguínea de ratones al inocular veneno de *T. festae* con la dosis de 1 DL₅₀ (4.9 mg/Kg).

Química sanguínea de ratones al inocular veneno de <i>T. festae</i> con la dosis de 1 DL ₅₀							
Parámetro	0 min	5 min	15 min	30 min	60 min	180 min	1440 min
Glucosa (mg/dL)	200.9 ± 29.3	184.9 ± 28.9	278.6 ± 28.0*	246.6 ± 36.5	161.6 ± 18.4	146.5 ± 5.5	152.4 ± 10.7
Amilasa (U/L)	566 ± 70	555 ± 86	581 ± 103	847 ± 56*	715 ± 158*	1082 ± 85*	711 ± 87*
CK (U/L)	203 ± 71	472 ± 142*	676 ± 145*	629 ± 192*	679 ± 138*	1488 ± 13*	443 ± 119
CK-MB (U/L)	165 ± 38	269 ± 63*	251 ± 70*	327 ± 118*	366 ± 59*	445 ± 118*	188 ± 77
Creatinina (mg/dL)	0.47 ± 0.05	0.55 ± 0.03*	0.65 ± 0.10*	0.89 ± 0.20*	0.64 ± 0.05*	0.58 ± 0.02*	0.55 ± 0.03
Nitrógeno de urea (mg/dL)	15.5 ± 2.9	15.5 ± 2.5	14.0 ± 3.8	21.0 ± 2.5	20.3 ± 3.0	41.8 ± 2.2*	26.8 ± 1.1*
Sodio (mmol/L)	145 ± 8	157 ± 4	151 ± 5	163 ± 6	159 ± 4	157 ± 6	156 ± 9
Potasio (mmol/L)	5.84 ± 1.16	7.67 ± 0.40	5.18 ± 0.61	6.34 ± 0.39	6.67 ± 1.04	6.73 ± 0.80	7.85 ± 0.25

Resultados expresados como la media ±DE. Diferencia estadísticamente significativa en comparación con el control según la prueba de Dunnett (*p<0.05).

Tabla 67. Química sanguínea de ratones al inocular veneno de *T. festae* con la dosis de 1.5 DL₅₀ (7.35 mg/Kg)

Química sanguínea de ratones al inocular veneno de <i>T. festae</i> con la dosis de 1.5 DL₅₀			
Parámetro	0 min	5 min	15 min
Glucosa (mg/dL)	200.9 ± 29.3	186.1 ± 18.5	314.9 ± 24.1*
Amilasa (U/L)	566 ± 70	593 ± 6	708 ± 12*
CK (U/L)	203 ± 71	282 ± 49	138 ± 72
CK-MB (U/L)	165 ± 38	211 ± 49	285 ± 25*
Creatinina (mg/dL)	0.47 ± 0.05	0.67 ± 0.02*	0.73 ± 0.03*
Nitrógeno de urea (mg/dL)	15.5 ± 2.9	23.4 ± 2.0*	21.0 ± 2.5
Sodio (mmol/L)	145 ± 8	150 ± 3	147 ± 3
Potasio (mmol/L)	5.84 ± 1.16	7.58 ± 0.45*	6.66 ± 0.29

Resultados expresados como la media ±DE. Diferencia estadísticamente significativa en comparación con el control según la prueba de Dunnett (*p<0.05).

En los **Gráficos 32, 33, 34, 35, 36, 37 y 38**, se muestran el comportamiento de la glucosa, amilasa, CK, CK-MB, creatinina, nitrógeno de urea y sodio. Estos parámetros que obtuvieron una diferencia significativa en 3 o más tiempos de evaluación según la prueba de Dunnett (*p<0.05), por lo que se procedió a realizar un ANOVA de dos factores para tiempo y dosis, encontrándose diferencia significativa (p<0.05) para el factor tiempo en todos los parámetros, mientras que, para el factor dosis se encontró diferencia significativa (p<0.05) en la glucosa, CK, nitrógeno de urea y sodio, sin embargo, para la interacción entre los dos factores (tiempo y dosis) no hubo diferencia significativa (p>0.05) para el sodio.

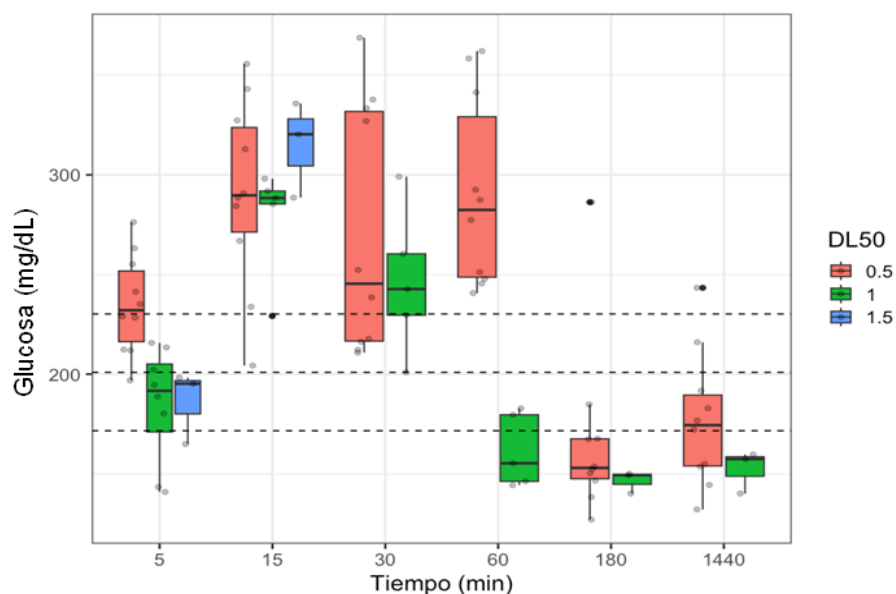


Gráfico 32. Comportamiento de la glucosa en ratones después de recibir veneno de *T. festae* en diferentes dosis
La línea punteada representa la media ($\pm 1DS$) del grupo control.

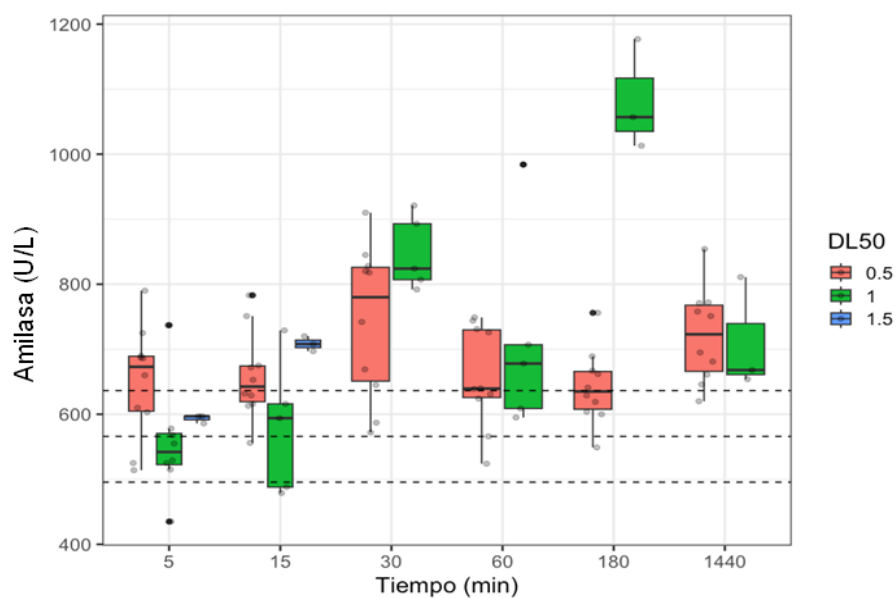


Gráfico 33. Comportamiento de la amilasa en ratones después de recibir veneno de *T. festae* en diferentes dosis
La línea punteada representa la media ($\pm 1DS$) del grupo control.

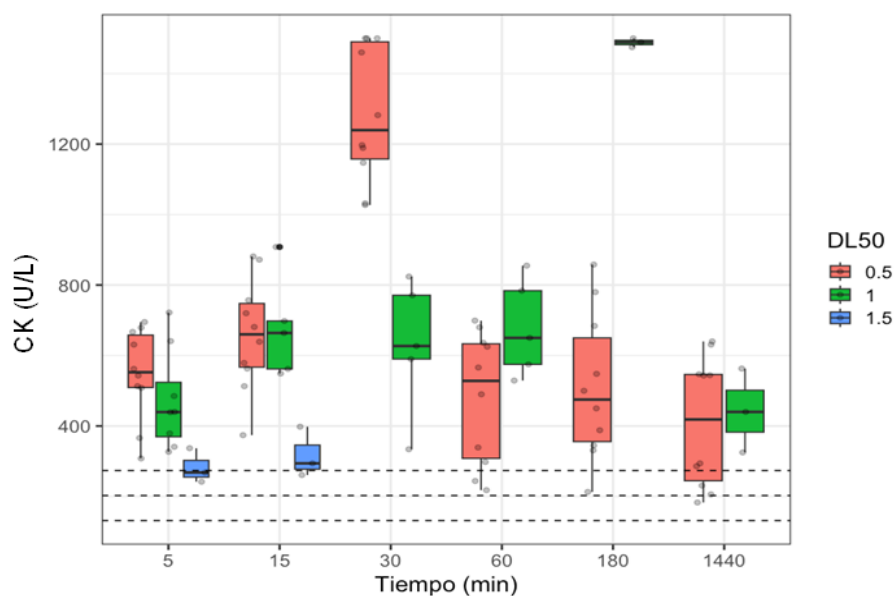


Gráfico 34. Comportamiento de la CK en ratones después de recibir veneno de *T. festae* en diferentes dosis.
La línea punteada representa la media ($\pm 1DS$) del grupo control.

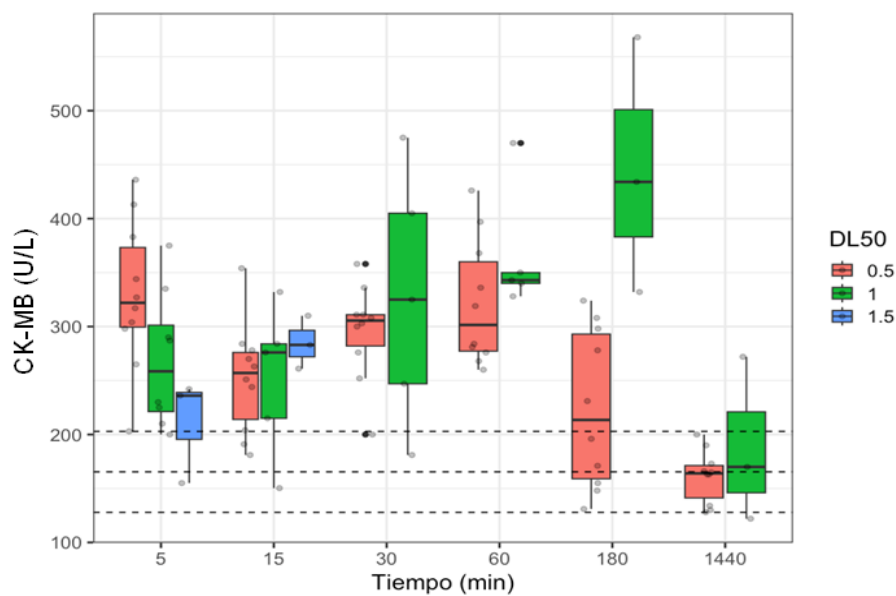


Gráfico 35. Comportamiento de la CK-MB en ratones después de recibir veneno de *T. festae* en diferentes dosis.
La línea punteada representa la media ($\pm 1DS$) del grupo control.

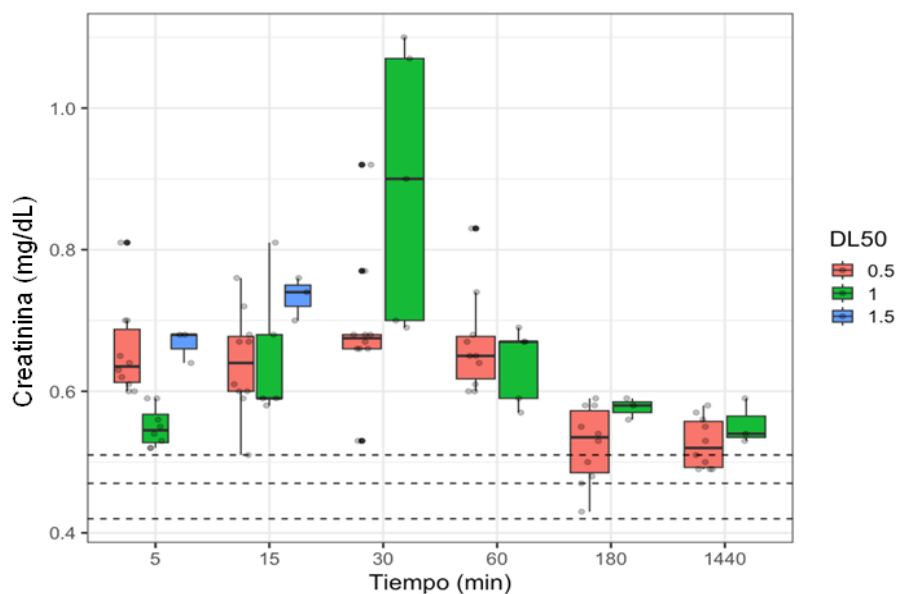


Gráfico 36. Comportamiento de la creatinina en ratones después de recibir veneno de *T. festae* en diferentes dosis.
La línea punteada representa la media ($\pm 1DS$) del grupo control.

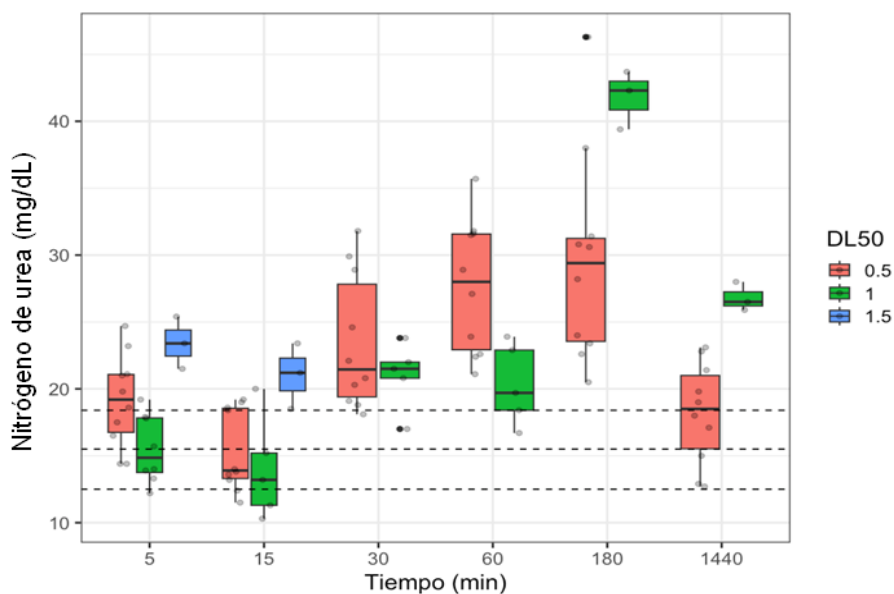


Gráfico 37. Comportamiento del nitrógeno de urea en ratones después de recibir veneno de *T. festae* en diferentes dosis.
La línea punteada representa la media ($\pm 1DS$) del grupo control.

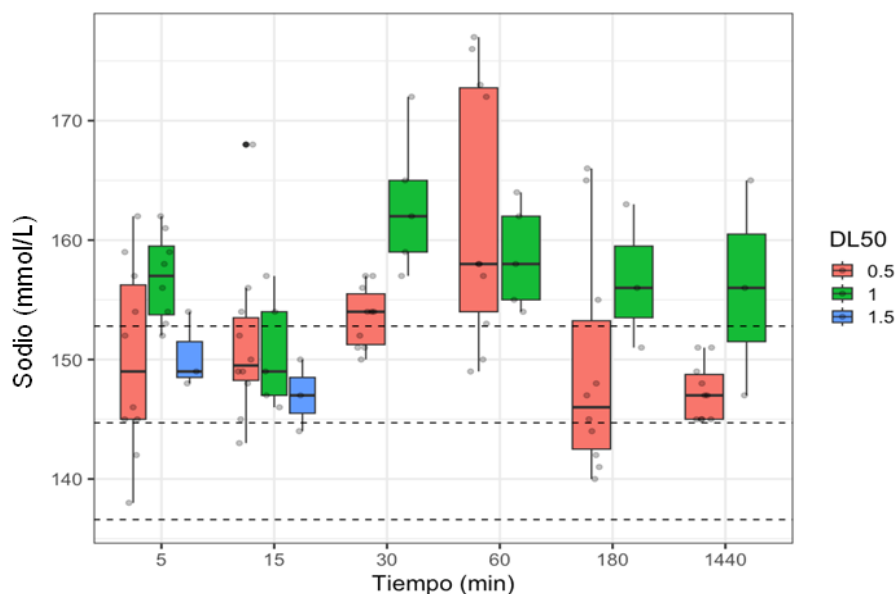


Gráfico 38. Comportamiento del sodio en ratones después de recibir veneno de *T. festae* en diferentes dosis.
La línea punteada representa la media ($\pm 1DS$) del grupo control.

4.1.14. Química sanguínea de ratones inoculados con el veneno de *Centruroides bicolor*

En los ensayos de química sanguínea realizados para determinar de forma indirecta alguna alteración en órganos esenciales en ratones inoculados con el veneno de *C. bicolor*, se evaluaron las tres dosis ($0.5 DL_{50}$, $1 DL_{50}$ y $1.5 DL_{50}$). Para este veneno, logramos tener muestra de todos los tiempos en las 3 dosis trabajadas.

En las **Tablas 68, 69 y 70**, se presentan los valores obtenidos en la química sanguínea de ratones inoculados con $0.5 DL_{50}$, $1 DL_{50}$ y $1.5 DL_{50}$, respectivamente, expresados como la media $\pm DE$ y diferencia estadísticamente significativa en comparación con el grupo control, según la prueba de Dunnett (* $p < 0.05$).

Tabla 68. Química sanguínea de ratones al inocular veneno de *C. bicolor* con la dosis de 0.5 DL₅₀ (1.70 mg/Kg).

Química sanguínea de ratones al inocular veneno de <i>C. bicolor</i> con la dosis de 0.5 DL ₅₀							
Parámetro	0 min	5 min	15 min	30 min	60 min	180 min	1440 min
Glucosa (mg/dL)	200.9 ± 29.3	204 ± 42.2	202.1 ± 21.3	229.5 ± 39.3	313.6 ± 66.4*	199.9 ± 21.6	196.1 ± 24.8
Amilasa (U/L)	566 ± 70	648 ± 81	644 ± 53	846 ± 90*	1358 ± 115*	1447 ± 244*	652 ± 49
CK (U/L)	203 ± 71	419 ± 38*	419 ± 74*	816 ± 90*	989 ± 117*	1618 ± 195*	893 ± 63*
CK-MB (U/L)	165 ± 38	328 ± 51*	336 ± 61*	421 ± 54*	373 ± 80*	257 ± 63	171 ± 61
Creatinina (mg/dL)	0.47 ± 0.05	0.56 ± 0.03*	0.56 ± 0.05*	0.58 ± 0.03*	0.58 ± 0.03*	0.55 ± 0.03*	0.55 ± 0.06*
Nitrógeno de urea (mg/dL)	15.5 ± 2.9	14.9 ± 2.1	16.5 ± 2.6	16.7 ± 1.5	16.7 ± 2.3	16.1 ± 3.5	17.5 ± 6.7
Sodio (mmol/L)	145 ± 8	151 ± 3*	154 ± 4*	148 ± 3	143 ± 4	153 ± 5*	155 ± 4*
Potasio (mmol/L)	5.84 ± 1.16	5.23 ± 0.98	5.37 ± 0.71	4.59 ± 0.40*	4.70 ± 0.59*	5.81 ± 0.78	6.69 ± 0.82

Resultados expresados como la media ±DE. *Diferencia estadísticamente significativa en comparación con el grupo control según la prueba de Dunnett (P<0.05).

Tabla 69. Química sanguínea de ratones al inocular veneno de *C. bicolor* a la dosis de 1 DL₅₀ (3.4 mg/Kg).

Química sanguínea de ratones al inocular veneno de <i>C. bicolor</i> con la dosis de 1 DL ₅₀							
Parámetro	0 min	5 min	15 min	30 min	60 min	180 min	1440 min
Glucosa (mg/dL)	200.9 ± 29.3	200.0 ± 19.9	304.0 ± 34.3*	345.5 ± 42.8*	355.6 ± 21.0*	274.8 ± 17.3*	204.9 ± 14.4
Amilasa (U/L)	566 ± 70	648 ± 81	732 ± 72*	1286 ± 144*	969 ± 84*	768 ± 111*	641 ± 53
CK (U/L)	203 ± 71	419 ± 38*	479 ± 52*	701 ± 97*	1367 ± 226*	1025 ± 95*	517 ± 83*
CK-MB (U/L)	165 ± 38	296 ± 111*	210 ± 50	416 ± 163*	386 ± 81*	295 ± 118*	117 ± 19
Creatinina (mg/dL)	0.47 ± 0.05	0.60 ± 0.06*	0.67 ± 0.13*	0.59 ± 0.04*	0.53 ± 0.07	0.57 ± 0.04*	0.57 ± 0.06*
Nitrógeno de urea (mg/dL)	15.5 ± 2.9	11.9 ± 2.2	13.8 ± 3.1	15.8 ± 3.8	16.6 ± 3.6	16.1 ± 2.8	18.7 ± 6.7
Sodio (mmol/L)	145 ± 8	155 ± 6*	151 ± 4*	153 ± 5*	155 ± 10*	154 ± 6*	156 ± 7*

Química sanguínea de ratones al inocular veneno de <i>C. bicolor</i> con la dosis de 1 DL ₅₀							
Parámetro	0 min	5 min	15 min	30 min	60 min	180 min	1440 min
Potasio (mmol/L)	5.84 ± 1.16	6.11 ± 1.03	5.83 ± 0.90	5.68 ± 1.08	5.03 ± 0.75	4.65 ± 0.85*	6.35 ± 0.96

Resultados expresados como la media ±DE. *Diferencia estadísticamente significativa en comparación con el grupo control según la prueba de Dunnett (P<0.05).

Tabla 70. Química sanguínea de ratones al inocular veneno de *C. bicolor* con la dosis de 1.5 DL₅₀ (5.10 mg/Kg)

Química sanguínea de ratones al inocular veneno de <i>C. bicolor</i> con la dosis de 1.5 DL ₅₀							
Parámetro	0 min	5 min	15 min	30 min	60 min	180 min	1440 min
Glucosa (mg/dL)	200.9 ± 29.3	226.3 ± 22.4	288.6 ± 32.9*	297.4 ± 10.0*	363.5 ± 29.4*	295.8 ± 17.1*	204.5 ± 30.2
Amilasa (U/L)	566 ± 70	821 ± 136*	951 ± 104*	996 ± 89*	1866 ± 365*	826 ± 90*	787 ± 67*
CK (U/L)	203 ± 71	468 ± 59	705 ± 95*	1321 ± 210*	2006 ± 262*	1191 ± 182*	425 ± 41*
CK-MB (U/L)	165 ± 38	197 ± 74	262 ± 78	517 ± 156*	537 ± 203*	782 ± 345*	135 ± 20
Creatinina (mg/dL)	0.47 ± 0.05	0.54 ± 0.03*	0.62 ± 0.05*	0.66 ± 0.11*	0.54 ± 0.07*	0.55 ± 0.05*	0.54 ± 0.07*
Nitrógeno de urea (mg/dL)	15.5 ± 2.9	13.8 ± 2.6	16.7 ± 4.5	17.7 ± 3.1	18.4 ± 4.9	24.1 ± 11.1*	15.6 ± 3.4
Sodio (mmol/L)	145 ± 8	149 ± 7	158 ± 5*	151 ± 5*	149 ± 7	151 ± 11	151 ± 6
Potasio (mmol/L)	5.84 ± 1.16	6.89 ± 0.82*	7.13 ± 1.08*	5.13 ± 0.96	5.85 ± 1.61	5.87 ± 1.04	7.09 ± 0.61*

Resultados expresados como la media ±DE. Diferencia estadísticamente significativa en comparación con el grupo control según la prueba de Dunnett (*p<0.05).

En los **Gráficos 39, 40, 41, 42, 43 y 44**, se muestran el comportamiento de la glucosa, amilasa, CK, CK-MB, creatinina y sodio. Estos parámetros que obtuvieron una diferencia significativa en 3 o más tiempos de evaluación según la prueba de Dunnett (*p<0.05), por lo que se procedió a realizar un ANOVA de dos factores para tiempo y dosis, encontrándose diferencia significativa (p<0.05) para el factor tiempo en todos los parámetros, mientras que, para el factor dosis no se encontró diferencia significativa (p>0.05) en la creatinina, sin embargo, para la interacción entre los dos factores (tiempo y dosis) hubo diferencia significativa (p<0.05) para todos los parámetros.

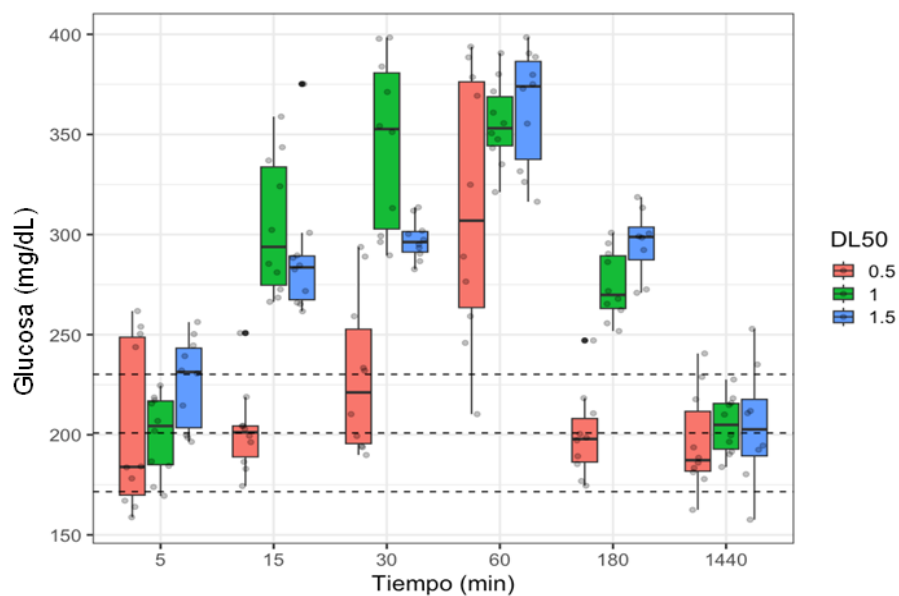


Gráfico 39. Comportamiento de la glucosa en ratones después de recibir veneno de *C. bicolor* en diferentes dosis.
La línea punteada representa la media (± 1 DS) del grupo control.

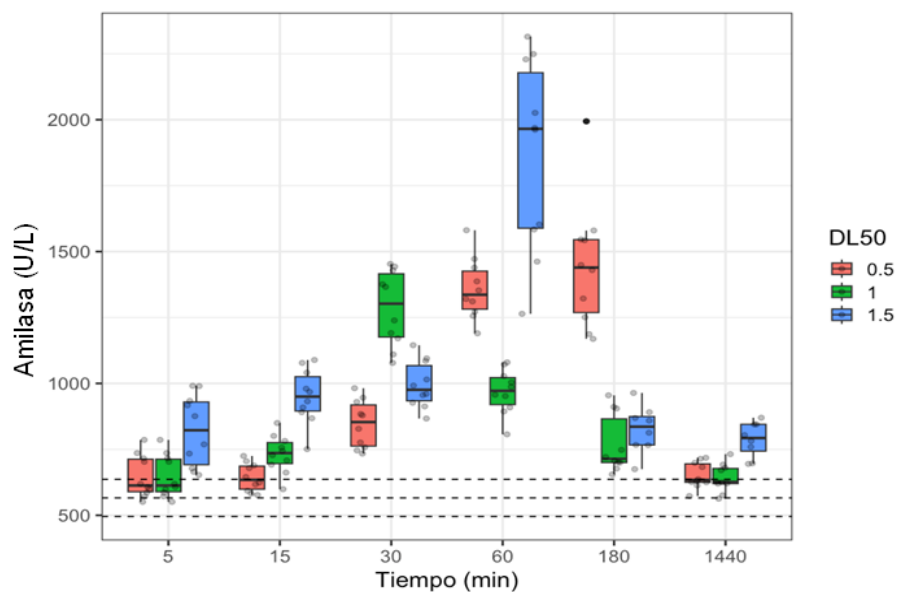


Gráfico 40. Comportamiento de la amilasa en ratones después de recibir veneno de *C. bicolor* en diferentes dosis.
La línea punteada representa la media (± 1 DS) del grupo control.

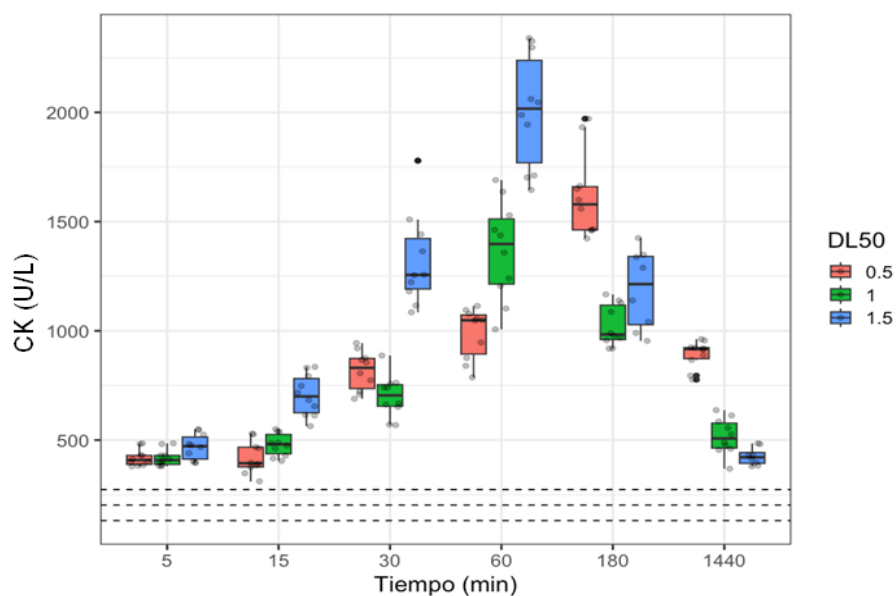


Gráfico 41. Comportamiento de la CK en ratones después de recibir veneno de *C. bicolor* en diferentes dosis.

La línea punteada representa la media ($\pm 1DS$) del grupo control.

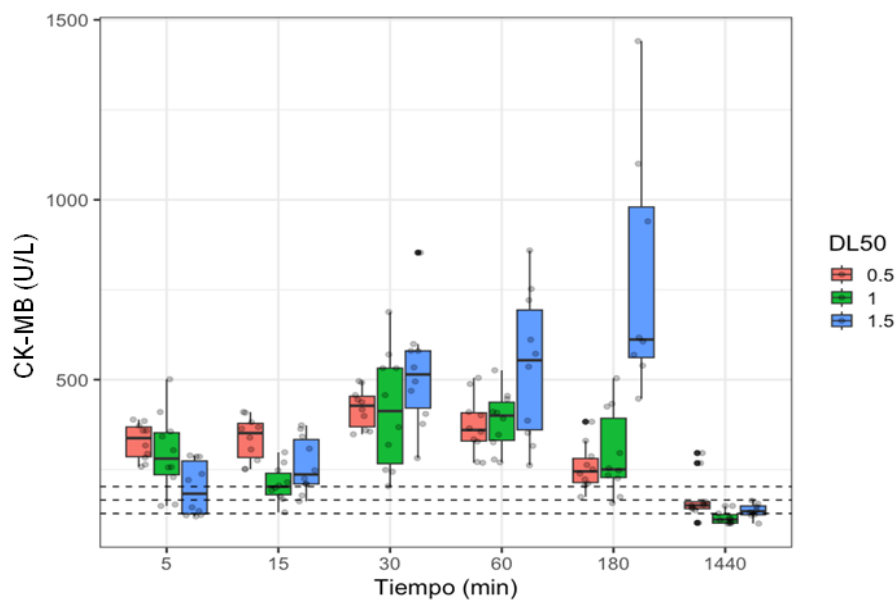


Gráfico 42. Comportamiento de la CK-MB en ratones después de recibir veneno de *C. bicolor* en diferentes dosis.

La línea punteada representa la media ($\pm 1DS$) del grupo control.

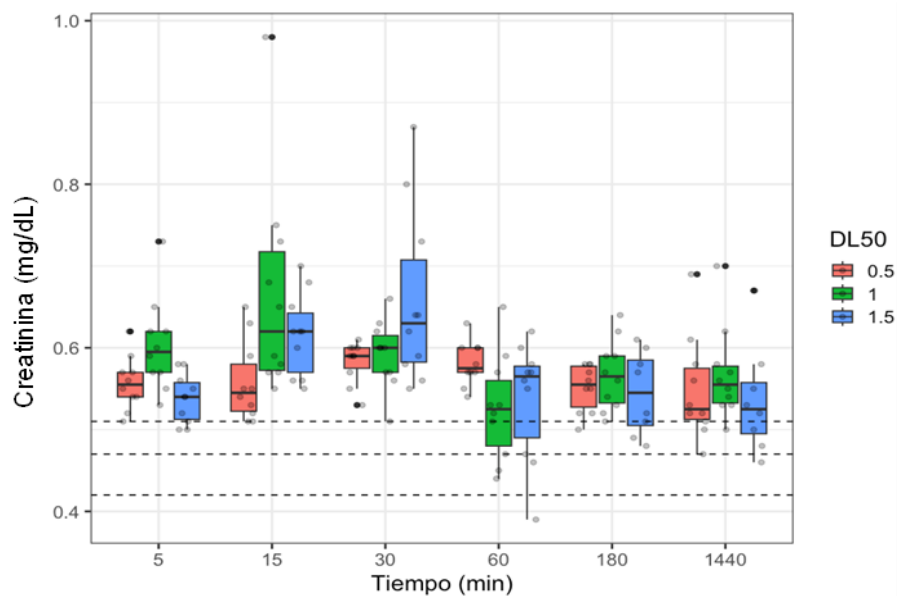


Gráfico 43. Comportamiento de la creatinina en ratones después de recibir veneno de *C. bicolor* en diferentes dosis.
La línea punteada representa la media ($\pm 1DS$) del grupo control.

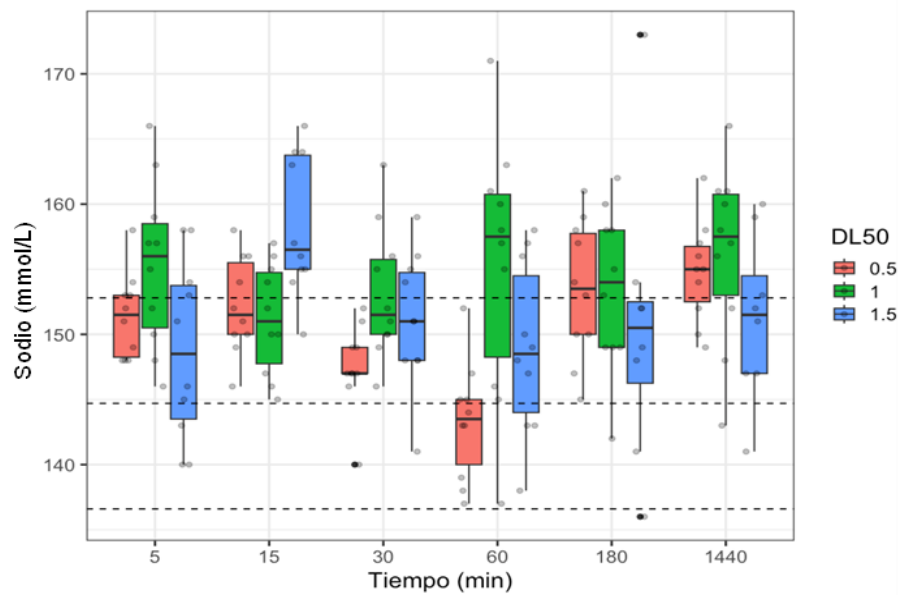


Gráfico 44. Comportamiento del sodio en ratones después de recibir veneno de *C. bicolor* en diferentes dosis.
La línea punteada representa la media ($\pm 1DS$) del grupo control.

4.1.15. Química sanguínea de ratones inoculados con el veneno de *Centruroides limbatus*

En los ensayos de química sanguínea realizados para determinar de forma indirecta alguna alteración en órganos esenciales en ratones inoculados con el veneno de *C. limbatus*, se evaluaron las tres dosis (0.5 DL₅₀, 1 DL₅₀ y 1.5 DL₅₀). Para la dosis baja 0.5 DL₅₀ y la dosis intermedia 1 DL₅₀ se logró tomar muestras para hacer la química sanguínea hasta las 24 horas, pero para la dosis alta 1.5 DL₅₀ solo se logró hasta los 5 minutos, debido a que en este tiempo los ratones habían muerto después de la inyección IV.

En las **Tablas 71, 72 y 73**, se presentan los valores obtenidos en la química sanguínea ratones inoculados con 0.5 DL₅₀, 1 DL₅₀ y 1.5 DL₅₀, respectivamente, expresados como la media $\pm$ DE y diferencia estadísticamente significativa en comparación con el grupo control, según la prueba de Dunnett (*p<0.05).

Tabla 71. Química sanguínea de ratones al inocular veneno de *C. limbatus* con la dosis de 0.5 DL₅₀ (2.85 mg/Kg).

Química sanguínea de ratones al inocular veneno de <i>C. limbatus</i> con la dosis de 0.5 DL ₅₀							
Parámetro	0 min	5 min	15 min	30 min	60 min	180 min	1440 min
Glucosa (mg/dL)	200.9 $\pm$ 29.3	203.9 $\pm$ 22.1	252.7 $\pm$ 38.8*	243.1 $\pm$ 34.0*	185.1 $\pm$ 35.4	171.4 $\pm$ 24.6	163.7 $\pm$ 32.6*
Amilasa (U/L)	566 $\pm$ 70	542 $\pm$ 48	584 $\pm$ 43	615 $\pm$ 126	636 $\pm$ 78	667 $\pm$ 57*	487 $\pm$ 31
CK (U/L)	203 $\pm$ 71	357 $\pm$ 63	382 $\pm$ 118*	581 $\pm$ 229*	315 $\pm$ 183	310 $\pm$ 82	430 $\pm$ 147*
CK-MB (U/L)	165 $\pm$ 38	319 $\pm$ 60*	346 $\pm$ 76*	319 $\pm$ 88*	206 $\pm$ 54	124 $\pm$ 8	157 $\pm$ 26
Creatinina (mg/dL)	0.47 $\pm$ 0.05	0.54 $\pm$ 0.04*	0.62 $\pm$ 0.04*	0.59 $\pm$ 0.07*	0.61 $\pm$ 0.05*	0.62 $\pm$ 0.07*	0.43 $\pm$ 0.03
Nitrógeno de urea (mg/dL)	15.5 $\pm$ 2.9	14.2 $\pm$ 2.9	21.6 $\pm$ 7.2*	22.4 $\pm$ 8.1*	21.4 $\pm$ 6.6*	13.7 $\pm$ 3.1	14.7 $\pm$ 3.4
Sodio (mmol/L)	145 $\pm$ 8	144 $\pm$ 4	159 $\pm$ 9*	151 $\pm$ 6*	146 $\pm$ 5	146 $\pm$ 3	150 $\pm$ 12
Potasio (mmol/L)	5.84 $\pm$ 1.16	6.31 $\pm$ 0.83	5.27 $\pm$ 0.35	5.67 $\pm$ 0.92	6.10 $\pm$ 1.02	5.11 $\pm$ 0.57*	6.89 $\pm$ 0.54*

Resultados expresados como la media $\pm$ DE. Diferencia estadísticamente significativa en comparación con el control según la prueba de Dunnett (*p<0.05).

Tabla 72. Química sanguínea de ratones al inocular veneno de *C. limbatus* con la dosis de 1 DL₅₀ (5.7 mg/Kg).

Química sanguínea de ratones al inocular veneno de <i>C. limbatus</i> con la dosis de 1 DL ₅₀							
Parámetro	0 min	5 min	15 min	30 min	60 min	180 min	1440 min
Glucosa (mg/dL)	200.9 ± 29.3	204.0 ± 35.0	274.7 ± 36.8*	269.2 ± 24.7*	301.2 ± 48.8*	209.4 ± 16.3	167.8 ± 7.3
Amilasa (U/L)	566 ± 70	575 ± 43	690 ± 85*	692 ± 76*	978 ± 190 *	839 ± 217*	526 ± 54
CK (U/L)	203 ± 71	775 ± 102*	746 ± 109*	1080 ± 287*	1274 ± 270*	651 ± 161*	178 ± 12
CK-MB (U/L)	165 ± 38	199 ± 53	430 ± 73*	614 ± 55*	557 ± 89*	558 ± 45*	106 ± 4
Creatinina (mg/dL)	0.47 ± 0.05	0.55 ± 0.04*	0.56 ± 0.06*	0.57 ± 0.03*	0.53 ± 0.04*	0.50 ± 0.05	0.50 ± 0.01
Nitrógeno de urea (mg/dL)	15.5 ± 2.9	16.6 ± 2.5	19.7 ± 3.6	18.6 ± 3.7	22.8 ± 4.5*	16.5 ± 4.9	14.5 ± 1.1
Sodio (mmol/L)	145 ± 8	156 ± 4*	153 ± 5*	155 ± 7*	154 ± 3*	151 ± 4	155 ± 4
Potasio (mmol/L)	5.84 ± 1.16	6.63 ± 0.71	5.36 ± 1.10	5.11 ± 0.90*	4.85 ± 0.46*	5.71 ± 1.08	5.92 ± 0.36

Resultados expresados como la media ±DE. Diferencia estadísticamente significativa en comparación con el control según la prueba de Dunnett (*p<0.05).

Tabla 73. Química sanguínea de ratones al inocular veneno de *C. limbatus* con la dosis de 1.5 DL₅₀ (8.55 mg/Kg).

Química sanguínea de ratones inoculados con veneno de <i>C. limbatus</i> a la dosis de 1.5 DL ₅₀		
Parámetro	0 min	5 min
Glucosa (mg/dL)	200.9 ± 29.3	256.8 ± 13.7*
Amilasa (U/L)	566 ± 70	643 ± 101*
CK (U/L)	203 ± 71	381 ± 122*
CK-MB (U/L)	165 ± 38	627 ± 94*
Creatinina (mg/dL)	0.47 ± 0.05	0.66 ± 0.05*
Nitrógeno de urea (mg/dL)	15.5 ± 2.9	17.6 ± 3.4
Sodio (mmol/L)	145 ± 8	150 ± 2*
Potasio (mmol/L)	5.84 ± 1.16	7.21 ± 0.55*

Resultados expresados como la media ±DE. Diferencia estadísticamente significativa en comparación con el control según la prueba de t de Student (*p<0.05).

En los **Gráficos 45, 46, 47, 48, 49 y 50**, se muestran el comportamiento de la glucosa, amilasa, CK, CK-MB, creatinina y sodio. Estos parámetros que obtuvieron una diferencia significativa en 3 o más tiempos de evaluación según la prueba de Dunnett ($*p<0.05$), por lo que se procedió a realizar un ANOVA de dos factores para tiempo y dosis, encontrándose diferencia significativa ($p<0.05$) para el factor tiempo, factor dosis y para la interacción entre los dos factores (tiempo y dosis) en todos los parámetros.

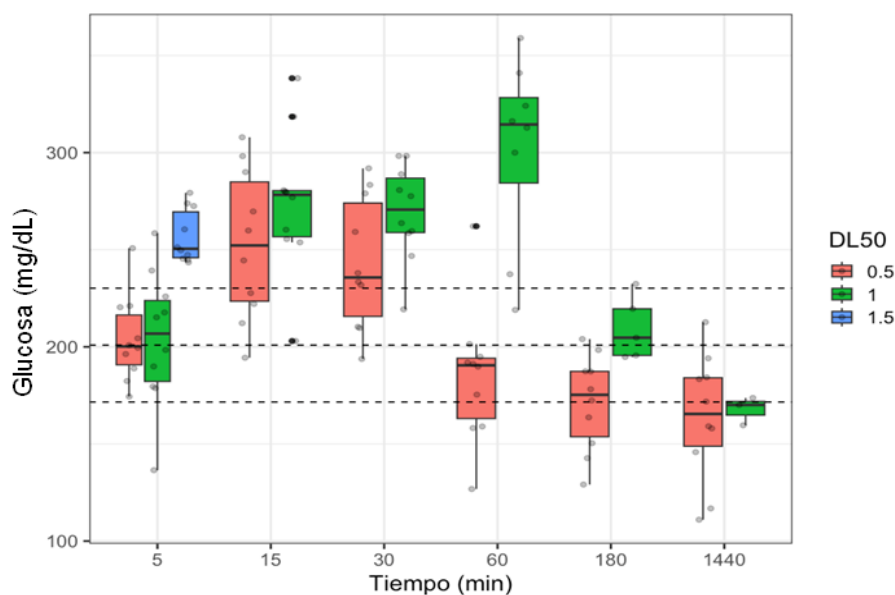


Gráfico 45. Comportamiento de la glucosa en ratones después de recibir veneno de *C. limbatus* en diferentes dosis.

La línea punteada representa la media ($\pm$ DS) del grupo control.

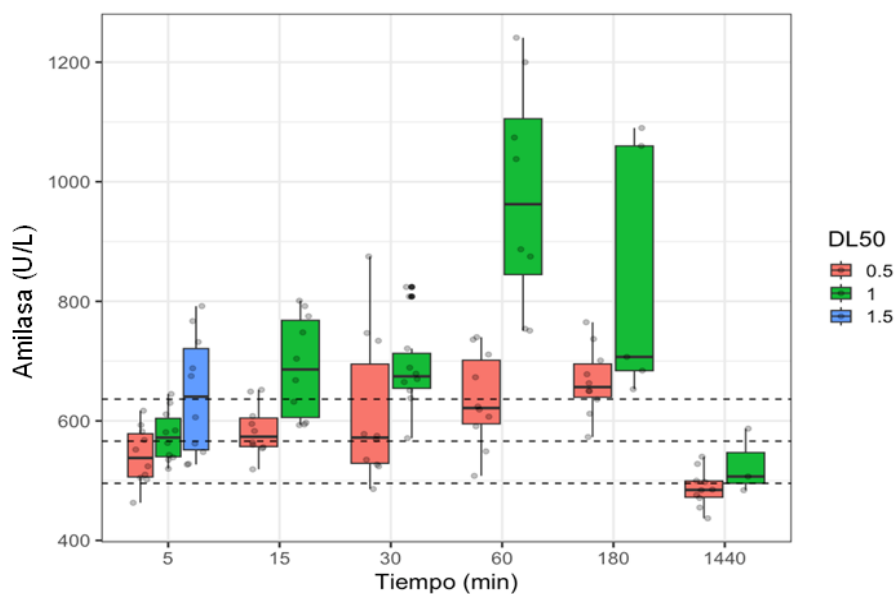


Gráfico 46. Comportamiento de la amilasa en ratones después de recibir veneno de *C. limbatus* en diferentes dosis.
La línea punteada representa la media ($\pm 1DS$) del grupo control.

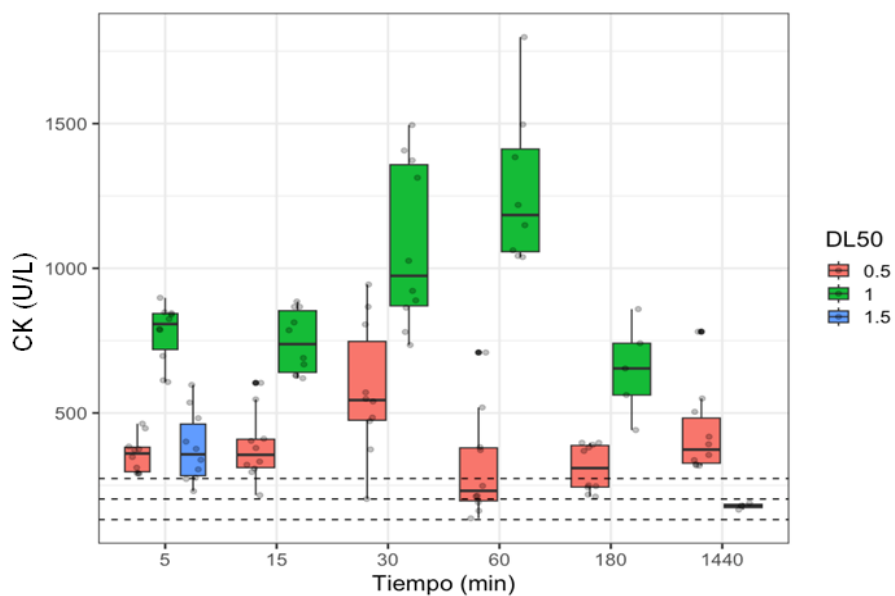


Gráfico 47. Comportamiento de la CK en ratones después de recibir veneno de *C. limbatus* en diferentes dosis.
La línea punteada representa la media ($\pm 1DS$) del grupo control.

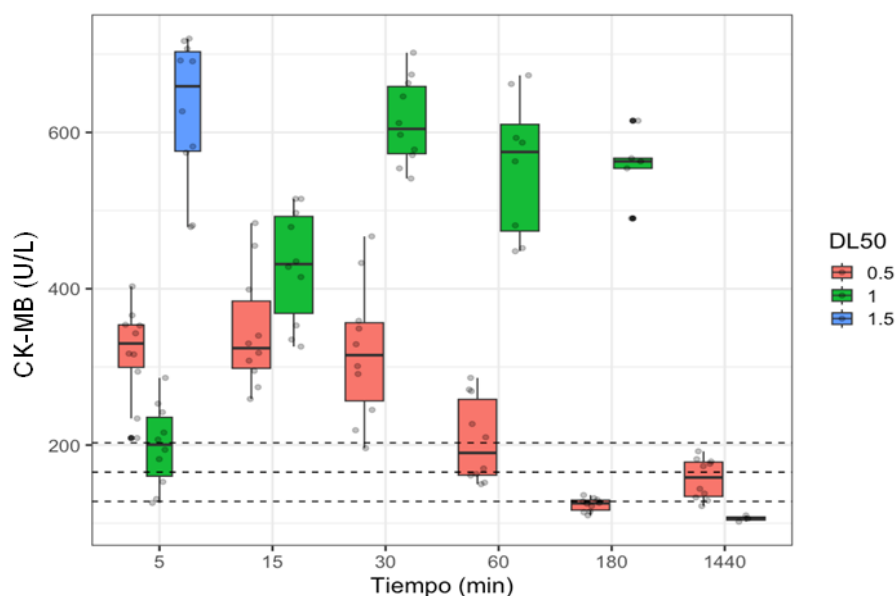


Gráfico 48. Comportamiento de la CK-MB en ratones después de recibir veneno de *C. limbatus* en diferentes dosis.
La línea punteada representa la media (± 1 DS) del grupo control.

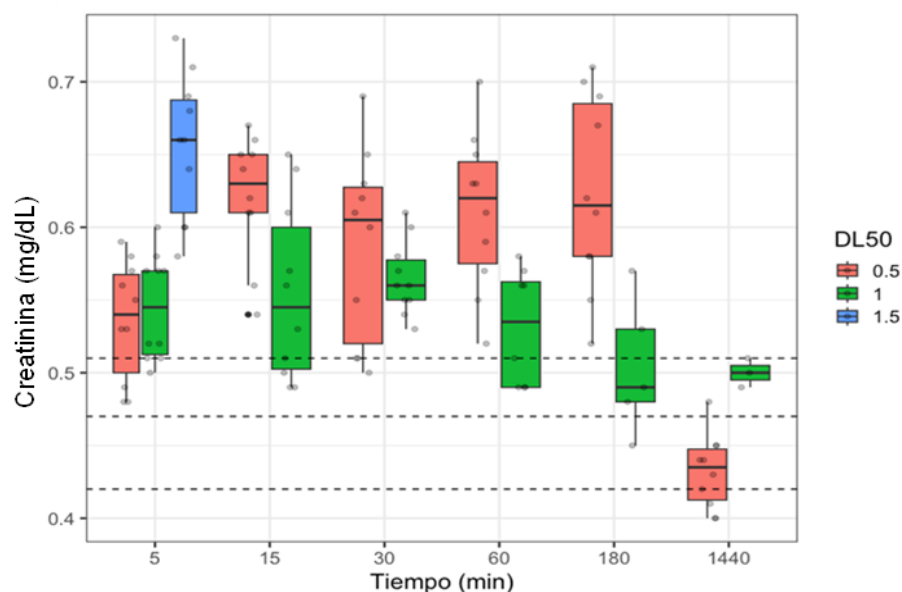


Gráfico 49. Comportamiento de la creatinina en ratones después de recibir veneno de *C. limbatus* en diferentes dosis.
La línea punteada representa la media (± 1 DS) del grupo control.

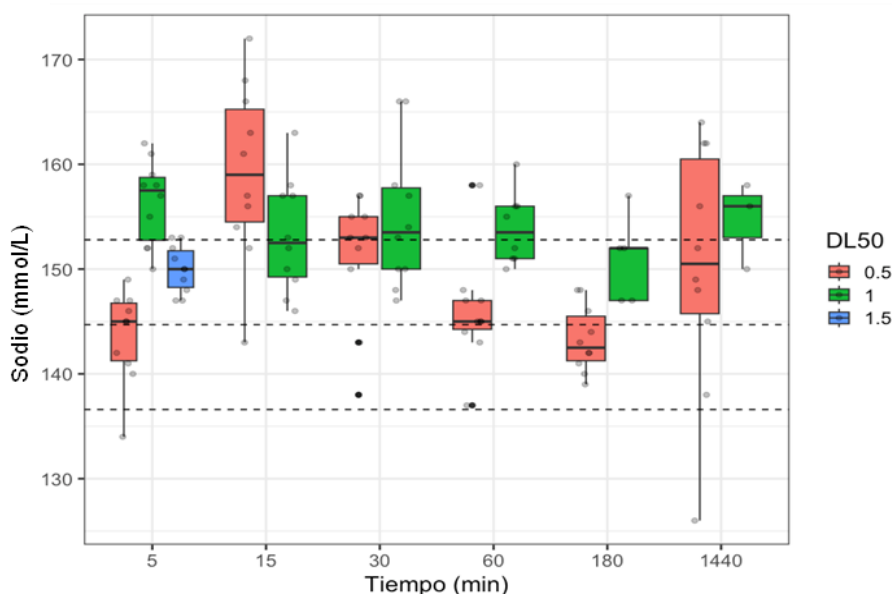


Gráfico 50. Comportamiento del sodio en ratones después de recibir veneno de *C. limbatus* en diferentes dosis.
La línea punteada representa la media ($\pm 1DS$) del grupo control.

4.1.16. Análisis proteómico del veneno de *Tityus (Atreus) sp.* y evaluación de la actividad biológica *in vivo* e *in vitro* de algunas fracciones

4.1.16.1. Fraccionamiento del veneno de *Tityus (Atreus) sp.* mediante cromatografía líquida de alta resolución de fase reversa

Después de fraccionar el veneno de *Tityus (Atreus) sp.*, por la técnica de RP-HPLC se obtuvieron 46 picos cromatográficos como se muestra en la **Figura 34**, de los cuales las fracciones con tiempo de retención de 37.248, 37.993 y 50.775 fueron utilizadas para determinar la actividad miotóxica en ratones y para evaluar la actividad hialuronidasa, tomamos de referencia el estudio de (Díaz et al., 2019), para elegir esas fracciones, siendo así que, se eligieron las fracciones con tiempo de retención de 47.022, 48.704, 50.775, 51.875 y 54.521 minutos.

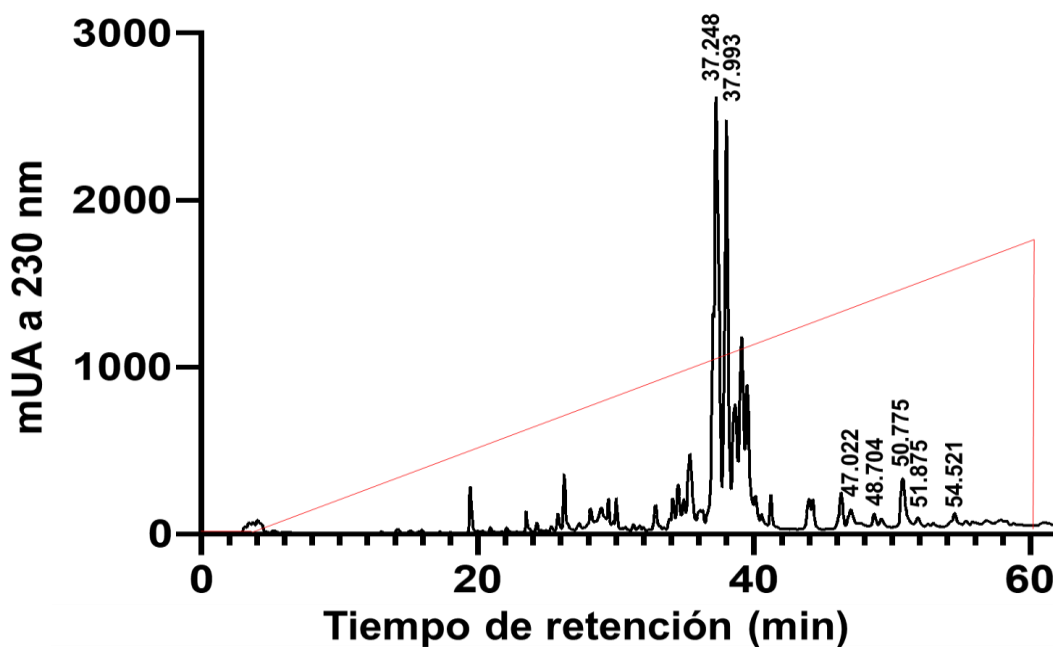


Figura 34. Perfil cromatográfico del veneno de *Tityus (Atreus) sp.*

Separación del veneno de *Tityus (Atreus) sp.* mediante cromatografía líquida de alta resolución de fase reversa (RP-HPLC), utilizando una columna C4 con un flujo de 1 mL/min durante 60 minutos y un gradiente lineal de solvente A (agua + 0.1% TFA) hasta 60% de solvente B (acetonitrilo + 0.1% TFA).

4.1.16.2. Determinación de la actividad miotóxica en ratones

Una vez inoculadas las fracciones del veneno *Tityus (Atreus) sp.* en el músculo gastrocnemio de ratones, no se registró cambios en los valores de la actividad de la enzima CK en suero, como se muestra en la **Tabla 74** y en el **Gráfico 51**, en comparación al grupo control.

Tabla 74. Niveles de la enzima CK en ratones inoculados con fracciones del veneno de *Tityus (Atreus) sp.*

Niveles de enzima CK (U/L) en ratones inoculados con fracciones del veneno de <i>Tityus (Atreus) sp.</i>	
Control	3141 ± 915
Fr1 37.248	3042 ± 847
Fr2 37.993	3107 ± 367
Fr3 50.775	2676 ± 401
Veneno completo de <i>Tityus (Atreus) sp.</i>	7083 ± 708*

Resultados expresados como la media ±DE. *Diferencia estadísticamente significativa con el control según la prueba de Dunnett (*p<0.05).

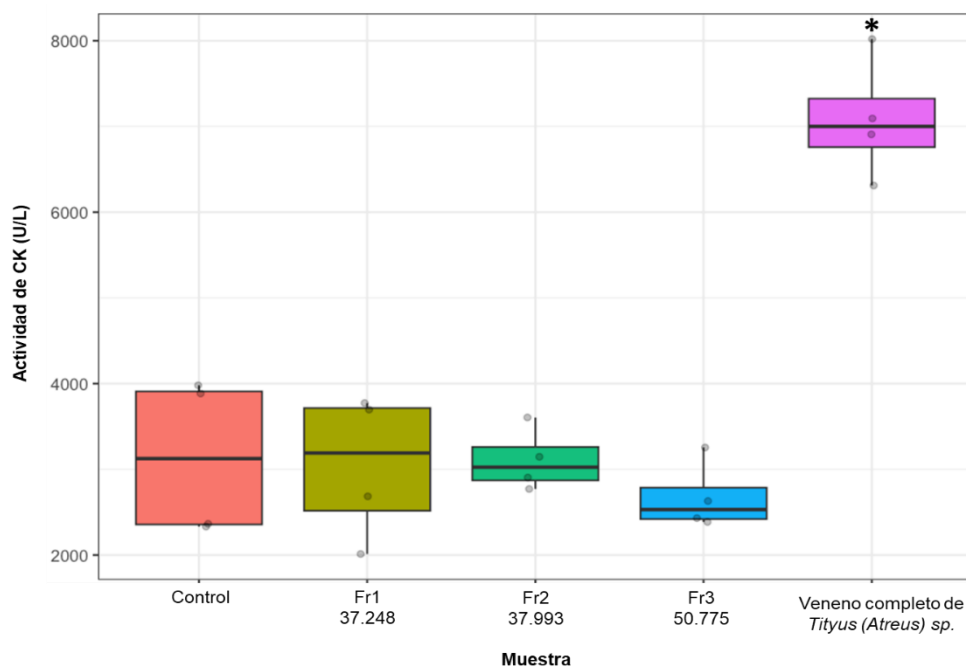


Gráfico 51. Actividad mitotóxica del veneno crudo y de las toxinas de *Tityus (Atreus) sp.*

Sólo la inoculación intramuscular de 10 µg de veneno crudo produjo la liberación de la enzima CK en suero. *p<0.05. **Fr:** Fracción

4.1.16.3. Actividad hialuronidasa en gel de poliacrilamida

La presencia de la actividad hialuronidasa, se evaluó con el veneno completo de *Tityus (Atreus) sp.* y con cinco fracciones obtenidas mediante la técnica de RP-HPLC, en donde se observó actividad hialuronidasa mediante la falta de color en una banda contra un fondo azul, que indica degradación del ácido hialurónico por la hialuronidasa, esto fue evidente en cuatro de las fracciones probadas, sin embargo, con el veneno completo no se observó la actividad, como se muestra en la **Tabla 75** y en el **Figura 35**.

Tabla 75. Actividad hialuronidasa con fracciones del veneno de *Tityus (Atreus) sp.*

Carril	Muestra	Concentración probada	Resultado obtenido
MPM	Marcador de peso molecular	5 μ L	
1	Veneno completo de <i>Tityus (Atreus) sp.</i>	5 μ g	Negativo
2	47.022	3 μ g	Positivo
3	48.704	3 μ g	Positivo
4	50.775	3 μ g	Positivo
5	51.875	3 μ g	Positivo
6	54.521	3 μ g	Negativo
7	Veneno de completo <i>T. vagans</i> (control positivo)	1 μ g	Positivo

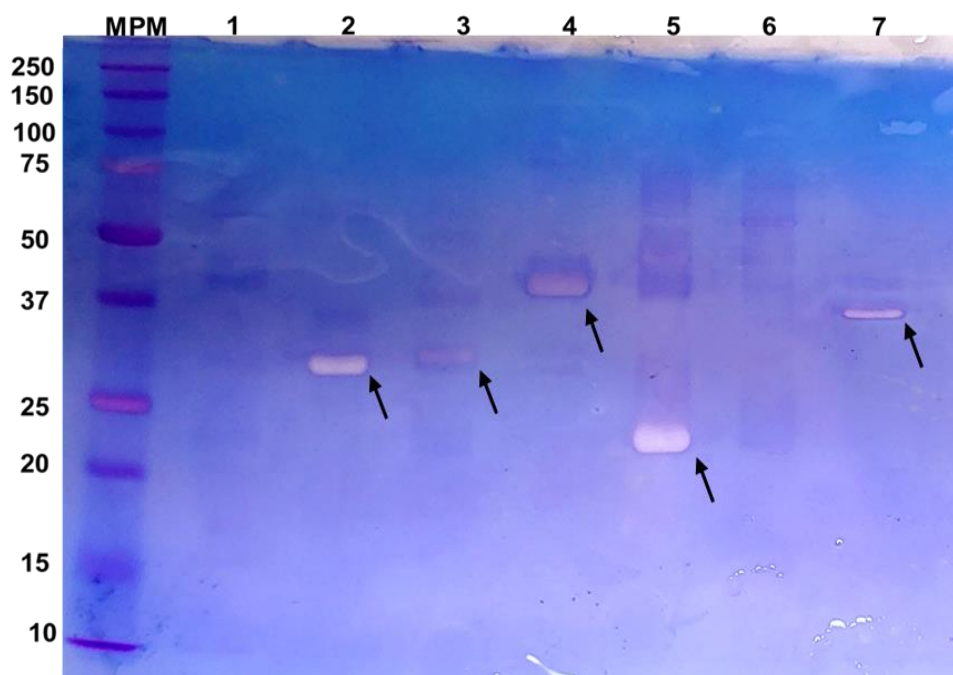


Figura 35. Zimograma de actividad hialuronidasa en gel de poliacrilamida. Marcador de peso molecular (kDa); veneno completo de *Tityus (Atreus) sp.* (1); Fracciones (2-6). Control positivo veneno de *T. vagans* (7).

4.2. Discusión

Para este estudio, se utilizó la técnica del tamizado hipocrático, en la cual se evaluó el veneno completo de cada escorpión, ya que se prefiere trabajar de esta manera porque así estaríamos asemejando a lo que realmente ocurre tras la picadura de un escorpión. En este sentido, evaluamos los signos de intoxicación causados por los venenos de 5 especies de escorpiones pertenecientes a los géneros *Tityus* y *Centruroides*, utilizando ratones de la cepa CD-1, por ser un biomodelo que en la investigación se puede usar para estudiar la biología o el comportamiento, investigar un proceso patológico o toxicológico, en el que se pueda reflejar por lo menos uno o más aspectos o fenómenos que puedan ser los mismos en el hombre o en otras especies animales (Saravia Gómez, 2004). Además, su utilización se fundamenta en el hecho de considerar a estas especies animales como modelos en miniatura de los problemas humanos (Rodríguez, 2007), a su vez, es un modelo que puede ser controlado, puesto que es muy difícil hacer estos estudios con seres humanos (Trejo et al., 2012), pero al utilizar este biomodelo encontramos que los ratones inyectados con los venenos de estos escorpiones generaron un cuadro de intoxicación neurotóxico, con predominio de signos adrenérgicos y/o colinérgicos, efectos cardiorrespiratorios, gastrointestinales y neurológicos, signos característicos de toxicidad, envenenamiento causado por los escorpiones pertenecientes a la familia Buthidae (Gómez et al., 2010).

Los signos de intoxicación inducidos de forma experimental al inocular el veneno de los escorpiones en tres dosis diferentes nos permiten evaluar la gravedad del envenenamiento en ratones y comparar, según lo descrito en pacientes por la Guía para el manejo integral de la picadura de escorpión en la República de Panamá (Ministerio de Salud, 2016). Cabe mencionar que, los efectos encontrados en esta investigación coinciden con los reportes de intoxicación producidos por otros venenos de escorpiones de la familia Buthidae (De Roodt, 2015), por ejemplo, el estudio realizado con veneno de *Tityus zulianus* (*T. zulianus*) y *T. discrepans* de Brasil (Trejo et al., 2012) y la comparación del escorpionismo provocado por *Centruroides margaritatus* (*C. margaritatus*), *Tityus pachyurus* (*T. pachyurus*) y *Tityus* n. sp. af. *metuendus* (*T. n. sp. af. metuendus*) de Colombia (Mendoza-Tobar et al., 2021).

En el presente estudio, los efectos más marcados que se mostraron con todos los venenos de escorpiones en las diferentes dosis fueron sialorrea y lacrimación, cromodacriorrea, defecación, parálisis de patas, como parte de los efectos causados por la acción de las neurotoxinas sobre el sistema nervioso parasimpático, así mismo, la taquipnea, piloerección, priapismo y colpectasia indican la acción de las toxinas sobre el sistema nervioso simpático, la ataxia y convulsiones tónico-clónicas nos evidencian un efecto sobre el sistema nervioso central, el efecto de la muerte se presentó al utilizar las dosis de 1 DL₅₀ y 1.5 DL₅₀ con los venenos de *Tityus (Atreus) sp.*, *T. championi*, *C. bicolor* y *C. limbatus*, sin embargo, el veneno de *T. festae* registró 1 muerto, utilizando la dosis de 0.5 DL₅₀.

Es importante recordar que, los venenos de escorpiones en su composición proteica, presentan proteínas de bajo peso molecular que tienen alta afinidad por membranas de tejidos excitables, generando así la consecuente estimulación de las células del sistema nervioso autónomo, liberando neurotransmisores adrenérgicos, como: adrenalina, noradrenalina y neurotransmisor colinérgico, como la ACh (De Araújo et al., 2017; Gómez et al., 2010), generando la gama de efectos toxicológicos observados, sin embargo, estos signos de intoxicación varían según la especie y la dosis de veneno aplicada, así lo describe Mendoza-Tobar y colaboradores, en el año 2021.

En este estudio, la mayoría de los efectos de intoxicación observados ocurrieron dentro de los primeros 5 hasta los 30 minutos, puesto que no hubo proceso de absorción por ser una administración directa en el torrente sanguíneo, para a las 3 horas de evaluación los ratones se mostraban casi recuperados, ya que se ha demostrado que, la toxicocinética de los compuestos presentes en los venenos de escorpión implica una rápida absorción, distribución y redistribución en la sangre hasta los órganos, alta afinidad tisular y excreción rápida (Laraba-Djebari et al., 2015). La rápida distribución del veneno desde el compartimento sanguíneo hasta los órganos es un proceso que puede causar alteraciones metabólicas e histopatológicas muy importantes (De Roodt, 2015).

En este estudio, todos los venenos de escorpiones indujeron sialorrea, sin embargo, esta fue más intensa en los venenos de *Tityus (Atreus) sp.*, *T. championi*, *T. festae* y *C. limbatus*, no obstante, el

veneno *C. bicolor* registró una menor producción de saliva. Este signo de envenenamiento fue uno de los que más se pudo evidenciar en esta investigación. Otros estudios experimentales han demostrado que la administración de veneno completo y/o toxinas purificadas del veneno de escorpiones pueden provocar salivación profusa (Petricevich, 2010), en este sentido, (Pucca et al., 2015), plantearon que el envenenamiento causado por el veneno de *T. serrulatus* provoca alteraciones de la glándula submandibular tras un aumento del volumen de saliva y que esto puede deberse a una sobreestimulación adrenérgica en receptores $\alpha 1$; también, estimulación colinérgica en los receptores M1 y M3, provocando un agotamiento de la saliva en la glándula. De igual forma, (Rodríguez-Acosta & Finol, 2000), evaluaron las alteraciones ultraestructurales de las glándulas salivales en ratones inoculados con veneno de *T. discrepans* y atribuyeron los cambios a efectos colinérgicos.

Los venenos de las cinco especies de escorpión evaluadas en el presente estudio provocaron la aparición de lágrimas y presencia de cromodacriorrea. Sin embargo, el veneno de *T. championi* fue el que causó un mayor aumento de la secreción lagrimal, y junto al veneno de *C. limbatus* fueron los que produjeron una mayor presencia de cromodacriorrea. El aumento de las lágrimas responde al efecto causado por la ACh sobre los receptores M3 en las glándulas lagrimales, este efecto se ha reportado en envenenamientos con otras especies de escorpiones como *T. asthenes*, *Tityus kaderkai*, *Tityus gonzalespongai* (*T. gonzalespongai*) y *T. pachyurus* (Barona et al., 2004; De Sousa et al., 2009; Escobar et al., 2013; Gómez et al., 2010). Sin embargo, no hay estudios de tipo histológico que reporten alguna alteración específica sobre el daño en estas glándulas (Pucca et al., 2015). Cabe mencionar que, el efecto de lacrimación sí se reporta en pacientes que son picados por escorpiones (Mazzei de Dávila et al., 2011; Ministerio de Salud, 2016). El efecto de cromodacriorrea observado en los ratones, se presenta en situaciones de estrés agudo por dolor o enfermedad, son lágrimas rojas que se deben a pigmentos de porfirina secretados por las glándulas de Harder; esta es una glándula exocrina que se localiza dentro de la órbita ósea y se cree que la liberación del pigmento implica mecanismos muscarínicos por acción de ACh sobre los receptores M3 (Santos & Carlini, 1988), al ser los venenos de *T. championi* y *C. limbatus* los que causaron este mayor efecto, existe la probabilidad, de que estos venenos causaran un mayor estado de dolor y sufrimiento en los animales de experimentación.

A nivel pulmonar, se observó una respiración aumentada en los animales evaluados con los venenos de las distintas especies de escorpión; este efecto se conoce como taquipnea y se define como aquella respiración que es rápida y superficial (Park & Khattar, 2023). En este estudio, los venenos de *Tityus (Atreus) sp.*, *T. festae* y *C. bicolor* fueron lo que causaron un mayor aumento de la frecuencia respiratoria. En los envenenamientos escorpiónicos, la taquipnea podría ser un signo de desarrollo de edema pulmonar (Pucca et al., 2015; Razi & Malekanrad, 2008), que puede ser causada por la estimulación simpática, a través de la adrenalina sobre los receptores β_2 , como un indicativo de broncodilatación (Lam de Calvo, 2018), además, este signo puede ser desarrollado como respuesta al estímulo de dolor, por activación de receptores propioceptivos que envían señales mediante el nervio vago hasta el núcleo del tracto solitario, donde se estimula la actividad del centro respiratorio, aumentando la frecuencia respiratoria (Arandia C. & Bertrand N, 2018). Adicionalmente, se pudo observar que los ratones envenenados presentaban una postura anormal conocida como catalepsia y mostraban contracción abdominal; estos efectos se han relacionado como signo de dolor. Cabe mencionar que, la taquipnea ha sido reportada en los envenenamientos de otras especies de escorpiones del géneros *Tityus* y *Centruroides* (Borges et al., 2010; Bucarechi et al., 2016; De Roodt, 2015; Fereidooni et al., 2023; Gómez et al., 2010; Guimarães et al., 2011; Mendoza-Tobar et al., 2021; Soto-Alfaro et al., 2019).

A nivel gastrointestinal, se presentaron síntomas como el aumento de la motilidad intestinal, evidenciado por el aumento de heces pastosas y mucosas. Los venenos de *Tityus (Atreus) sp.*, *T. championi*, *T. festae*, presentaron un mayor aumento de heces con moco, mientras que los venenos de *C. bicolor* y *C. limbatus* causaron solo aumento de heces pastosas. Este signo de diarrea puede deberse a la liberación de ACh, puesto que ACh activa la motilidad y el reflejo peristáltico al estimular los receptores M3 y M2 en el intestino; además, regula el transporte de agua, estimula la secreción en las criptas e inhibe la absorción, a través de las células de la superficie intestinal (Pucca et al., 2015). La liberación de ACh modifica la peristalsis gastrointestinal, provocando náuseas, vómitos y diarrea, como se ha reportado en pacientes que sufren envenenamiento escorpiónicos graves (Bahloul et al., 2005, 2017). La aparición de diarrea tras un envenenamiento escorpiónico se ha correlacionado con un mal pronóstico, principalmente, en niños (Bahloul et al., 2005).

Por otra parte, la parálisis de las patas fue un signo de envenenamiento observado durante la evaluación del screening. En este caso, se evidenció, en los primeros minutos y fue más evidente a lo largo del tiempo, cabe mencionar que se presentó con mayor intensidad con los venenos de *Tityus (Atreus) sp.*, *T. championi*, *T. festae* en las dosis de 1 y 1.5 DL₅₀; los venenos de *C. bicolor* y *C. limbatus*, causaron una parálisis de menor intensidad. Se sabe que el veneno de los escorpiones tiene potencial de provocar parálisis por la descarga masiva de neurotransmisores en los sistemas nerviosos somáticos sensitivos y parasimpáticos (Villa Manzano et al., 2016), siendo así que, en la unión neuromuscular postsináptica de la fibra estriada, las neuronas motoras somáticas utilizan ACh para despolarizar los músculos, a través de los receptores nicotínicos Nm, causando una contracción del músculo y, por tanto, la parálisis de la extremidad (Pucca et al., 2011; Westfall & Westfall, 2007). Otra explicación podría ser por la acción de alguna neurotoxina presente en los venenos que actúe sobre los canales de sodio Nav1.4 presentes, principalmente, en el músculo esquelético (Trejo et al., 2012). En el 2015, Pucca y colaboradores describieron que la toxina Ts1 de *T. serrulatus* es una de las toxinas más estudiada y que influye en la cinética de activación de los canales Nav1.2, Nav1.4 y Nav1.6, desplazando, considerablemente, el punto medio de activación de estos canales hacia potenciales más negativos, generando, así, una apertura en potenciales de reposo. Para otros venenos de escorpiones de la familia Buthidae, se ha reportado que éstos provocan parálisis de las patas en ratones, como el veneno de, *Centruroides limpidus limpidus* (*C. limpidus limpidus*), *T. kaderkai*, *T. pachyurus* de Panamá, actualmente llamado *Tityus jaimeí* y *Rhopalurus junceus* actualmente llamado *Heteroctenus junceus* (*H. junceus*) (Barona et al., 2004; Díaz-García et al., 2015; Escobar et al., 2013; Montilla, 2016; Padilla et al., 2003).

En esta investigación, las fasciculaciones se presentaron como otro signo de intoxicación en todos los venenos evaluados, no obstante, se evidenció mayormente al inocular las tres dosis del veneno de *T. festae*. Es posible que estas fasciculaciones se deban a la acción de toxinas sobre la maquinaria muscular estriada del músculo esquelético, especialmente, cuando hay liberación de Ca²⁺, por despolarización del propio músculo como se ha reportado para otras toxinas de escorpión (Trejo et al., 2012). Así mismo, Pucca y colaboradores, en el 2015, explicaron que esa liberación masiva de Ca²⁺ podría afectar los receptores de rianodina RyR y, por tanto, generar fasciculaciones y parálisis espástica.

Por otra parte, los venenos de *Tityus (Atreus) sp.* y *C. bicolor* fueron los que causaron un mayor efecto de piloerección y signo de Straub, seguido de *T. championi* y *T. festae*; por su parte, el veneno de *C. limbatus* fue el que causó estos efectos en menor proporción. La piloerección y el signo de cola de Straub fueron unos de los efectos más marcados y evidenciados en el cuerpo de los ratones en las tres dosis evaluadas de los cinco venenos. Por una parte, la piloerección, es un efecto de tipo adrenérgico, en este sentido, la liberación de noradrenalina desde las terminales nerviosas simpáticas sobre el músculo erector del pelo actúa sobre el adrenoreceptor $\alpha 1$, provocando contracción en el músculo aductor, también llamado músculo piloerector, generando que el pelo de los roedores se erice (Kikuchi-Utsumi et al., 2013). Este efecto ha sido reportado en ensayos con venenos de escorpiones de la familia Buthidae como *C. margaritatus*, *T. asthenes*, *T. gonzalespongai*, *T. n. sp. af. metuendo*, *T. obscurus* y *T. pachyurus* (De Sousa et al., 2009; Gómez et al., 2010; Mendoza-Tobar et al., 2021; Montilla, 2016; Santos-da-Silva et al., 2017). Por otra parte, la reacción de la cola de Straub no es más que una dorsiflexión de la cola que se curva hacia arriba y hacia delante con respecto a la orientación del cuerpo del animal, incluso se curva en forma de S; este fenómeno fue reportado por primera vez como una respuesta a los opiáceos y es producida por la contracción del músculo sacrococcígeo; se cree que esta acción tiene mecanismos serotoninérgicos, dopaminérgicos y noradrenérgicos (Kitanaka et al., 2012). El mecanismo noradrenérgico estaría implicado por efecto de la acción de noradrenalina sobre el receptor $\alpha 1$ en el músculo y esto sugiere una respuesta inducida por el estrés, en este sentido, los venenos de *Tityus (Atreus) sp.* y *C. bicolor*, como fueron los que generaron mayormente este efecto, se entiende así que fueron los que generaron un mayor estado de estrés en los animales. Este efecto ha sido reportado con venenos de *T. gonzalespongai* y *T. pachyurus* (De Sousa et al., 2009; Montilla, 2016).

En este estudio, el veneno de *T. festae* indujo priapismo y colpectasia en las tres dosis evaluadas; *Tityus (Atreus) sp.* solo lo hizo en la dosis de 1 DL₅₀, *T. championi* y *C. limbatus* lo presentaron en la dosis de 0.5 y 1 DL₅₀, y *C. bicolor* presentó este efecto en la dosis de 1 y 1.5 DL₅₀. Este efecto tóxico sobre el sistema reproductor estuvo evidenciado por la aparición de priapismo en ratones macho y colpectasia en ratones hembra. El priapismo es una erección dolorosa y prolongada del pene que no tiene relación con el deseo sexual, puede estar regulado por la producción de noradrenalina que al unirse de las células endoteliales genera la activación de la óxido nitro sintasa para producir óxido nítrico; este óxido nítrico activa el guanilato ciclasa y conduce a la síntesis de cGMP, que activa la proteína G, y actúa como vasodilatador del músculo liso cavernoso (Das et al.,

2021; Pucca et al., 2011), y la colpectasia es la distensión o dilatación de la vagina y se presenta de forma inflamada o rojiza (Gay, 2021; Saravia Gómez, 2004). Se ha reportado que los venenos de *C. margaritatus*, *T. obscurus*, *T. pachyurus* y *T. serrulatus* causan efecto de priapismo (Mendoza-Tobar et al., 2021; Pucca et al., 2011; Santos-da-Silva et al., 2017). En víctimas humanas, este signo se presenta en el grupo de edad pediátrica y en, aproximadamente, el 20% de los pacientes adultos (Pucca et al., 2011); en el 2010, Bahloul y colaboradores, reportaron la aparición de este efecto en el 80% de la población de varones estudiados de forma retrospectiva, sin embargo, no existe reporte de colpectasia en la población infantil femenina.

En esta investigación, todos los venenos de escorpión causaron ataxia y convulsiones tónico-clónicas al utilizar las dosis de 1 y 1.5 DL₅₀, sin embargo, estas fueron más severas con el veneno de *T. festae* y en menor proporción con el veneno de *C. limbatus*; estos efectos fueron signos que se observaron como parte de la afección a nivel del sistema nervioso central. Algunos estudios han sugerido que el veneno completo de escorpión o fracciones aisladas, cuando se administran por vía intravenosa en animales de laboratorio, son capaces de actuar directamente sobre el sistema nervioso central provocando convulsiones (Nencioni et al., 2000, 2009, 2018). Las afecciones centrales como el accidente cerebrovascular embólico pueden producirse de forma secundaria a la miocarditis y arritmia, por aumento de la presión arterial después de una tormenta autonómica, vasoespasmos de los vasos cerebrales debido al exceso de catecolaminas, lesión endotelial y vasculitis mediadas por toxinas (Godoy et al., 2021). Para los venenos de *C. limpidus limpidus*, *T. asthenes*, *Tityus bahiensis*, *T. gonzalespongai*, *T. n. sp. af. metuendus*, *T. obscurus*, *T. pachyurus*, *T. serrulatus*, *Tityus silvestris* se ha demostrado que tienen afección sobre el sistema nervioso central de forma experimental, lo cual también se ha reportado en casos humanos (De Sousa et al., 2009; Gómez et al., 2010; Mendoza-Tobar et al., 2021; Montilla, 2016; Nencioni et al., 2018; Padilla et al., 2003).

Otro aspecto que se pudo evidenciar es que los venenos de escorpiones evaluados causan una alteración hematológica; entre los parámetros que se vieron afectados de la serie roja están: la hemoglobina, el hematocrito, el volumen corpuscular medio, la hemoglobina corpuscular media y amplitud de distribución eritrocitaria, cuando se inoculó el veneno de *Tityus (Atreus) sp.* y *T. festae*; *T. championi* alteraron el volumen corpuscular medio, la hemoglobina corpuscular media y la

amplitud de distribución eritrocitaria; de los parámetros de la serie blanca se vieron afectados el conteo total de glóbulos blancos y los neutrófilos, por todos los venenos inoculados. Además, el conteo total de las plaquetas se vio afectado en casi todos los venenos evaluados, sin embargo, *C. limbatus* no generó cambios en este parámetro. El aumento de la hemoglobina, el hematocrito, el volumen corpuscular medio y la hemoglobina corpuscular media están relacionados con la deshidratación que sufren los animales, ya que la pérdida de líquido causada por la sialorrea excesiva, la lacrimación, micción y las heces líquidas, producto del envenenamiento, provocarían que el líquido del espacio vascular fluya hacia los tejidos y de esta manera se genera un aumento del volumen corpuscular sin aumentar la masa total de los GR en circulación; este efecto podría generar una policitemia vera relativa, entendiendo que este tipo de policitemias son aquellas que generan un aumento de estos valores hematológicos de forma aguda y que rápidamente regresan al estado basal (Cusinato et al., 2010; Ribeiro et al., 2009). El aumento del hematocrito se debería a la contracción esplénica, en este sentido, la adrenalina y la histamina liberadas a causa del estrés y por el propio envenenamiento escorpiónico genera una contracción del bazo lo que provocaría un aumento del hematocrito como resultado del efecto simpatoadrenal (Acevedo & Ramírez, 2010; Ribeiro et al., 2009). El aumento del hematocrito genera una hiperemia; este efecto, también, fue observado solo con los venenos del género *Tityus* y se evidenciaba, principalmente, en la red capilar de las orejas de los ratones. Por otra parte, cuando el volumen corpuscular aumenta, la sangre se vuelve más viscosa, lo que dificulta el transporte de oxígeno y cuando no hay oxígeno suficiente en las células, se genera visiblemente el fenómeno de cianosis (Amaru Lucana & Vera Carrasco, 2016); este efecto se observó solamente en los ratones envenenados con veneno de *Tityus (Atreus) sp.*, *T. championi* y *T. festae* y fue evidente por el cambio de color azulado en el área genital de los animales, principalmente, en los machos. Estos efectos han sido reportados de forma experimental con los venenos de otros escorpiones como *T. discrepans*, *Tityus fasciolatus* y *T. serrulatus* (Cusinato et al., 2010; Guimarães et al., 2011; Ribeiro et al., 2009; A. Rodríguez et al., 2015).

En este estudio, también, se evidenció la leucocitosis y la neutrofilia, con el veneno de *Tityus (Atreus) sp.* se reflejó en dosis baja, el veneno de *T. championi* no aumentó los dos parámetros en la dosis intermedia, mientras que *T. festae* y *C. limbatus* aumentaron los leucocitos y neutrófilos en dosis intermedia, en tanto que, en dosis baja solo aumentaron el número de leucocitos; *C. bicolor* no generó aumento en la dosis baja, sin embargo, en dosis intermedia y alta ambos parámetros estuvieron elevados. Esta respuesta está mediada por el sistema inmune, el cual cumple el rol de

defender al organismo contra microbios infecciosos, sin embargo, sustancias extrañas no infecciosas pueden desencadenar respuestas inmunitarias, tal es el caso del envenenamiento escorpiónico. Esta respuesta inmunitaria desencadena una inflamación que no es más que el proceso de reclutamiento de leucocitos y proteínas plasmáticas desde la sangre, se acumulan en los tejidos y se activan para destruir la sustancia extraña (Abbas et al., 2012). En este sentido, los componentes presentes en los venenos de escorpiones desencadenan un síndrome similar a una respuesta inflamatoria sistémica, ya que se ha informado que pueden estimular los ejes inmunes neuroendocrinos y liberar catecolaminas, corticosteroides, bradicinina y prostaglandinas, también, pueden liberar y activar mediadores inflamatorios a partir de las citoquinas pro y antiinflamatorias liberadas por los mastocitos, macrófagos, neutrófilos y otros tejidos específicos (Borges et al., 2015; Laraba-Djebari et al., 2015). Los neutrófilos median la respuesta en las primeras fases de las reacciones inflamatorias, son también llamados leucocitos polimorfonucleares y son la población más abundante de leucocitos circulantes (Abbas et al., 2012). Este efecto de fiebre ha sido reportado por (Miranda et al., 2019; Petricevich, 2010; Romero & Hernández, 2005), además, desempeñan un papel importante en la fisiopatología del edema pulmonar (Laraba-Djebari et al., 2015). De esta manera, se ha descrito leucocitosis con neutrofilia en múltiples casos de envenenamiento escorpiónico en humanos y en animales de experimentación (Cáceres et al., 2022), como es el caso de envenenamiento por *T. asthenes*, *T. discrepans*, *T. pachyurus* y *T. serrulatus* (Amaya-Rodríguez et al., 2022; Borges et al., 2015; Cusinato et al., 2010; Izquierdo & Rodríguez Buitrago, 2012; Pinto et al., 2010; Ribeiro et al., 2009; Rodríguez et al., 2015). Además, en los envenenamientos clínicos y experimentales han demostrado que esta respuesta inflamatoria también se caracteriza por un aumento del nivel de citocinas, como IL-1, IL-6, TNF- α (D'Suze et al., 2011; Fukuhara et al., 2003; Laraba-Djebari et al., 2015), estas interleucinas son liberadas por células endoteliales, células epiteliales, macrófagos tisulares, mastocitos y neutrófilos, pueden actuar sobre el hipotálamo, provocando una mayor síntesis de PGE₂ para inducir un aumento de la temperatura corporal (Abbas et al., 2012).

Otros parámetros hematológicos evaluados, en este estudio, fueron los valores de plaquetas; estas registraron aumento con todos los venenos evaluados. Las plaquetas son células hematopoyéticas anucleadas que tienen funciones importantes en la hemostasia y desempeñan un papel importante en la respuesta inflamatoria (Konca et al., 2014; Sonmez & Sonmez, 2017). Se sabe que los venenos de escorpiones al ejercer acción sobre el sistema nervioso simpático libera adrenalina que es capaz

de aumentar el número de plaquetas circulantes (Rodríguez et al., 2015), por otra parte, las plaquetas secretan inmunomoduladores que son quimiotácticos para los neutrófilos, monocitos y linfocitos (Sonmez & Sonmez, 2017), es así como estos dos mecanismos podrían explicar el aumento de las plaquetas que se observa en los envenenamientos escorpiónicos, como lo reportó (Borges et al., 2015), en uno de los casos presentados por envenenamiento con veneno de *T. asthenes* en Ecuador, también, lo reportó (Bucarechi et al., 2016), en una paciente que sufrió una isquemia fatal por picadura de *T. serrulatus*. De esta manera, entendemos que los venenos de escorpiones panameños causan el desarrollo de una respuesta inflamatoria que puede llegar a causar otros cuadros patológicos como el edema agudo de pulmón en envenenamientos moderados y graves, y que, en algunos casos, podrían ser fatales.

Otras pruebas evaluadas y que fueron alteradas por los venenos de escorpiones fueron las pruebas bioquímicas; entre ellas, el potasio fue el único parámetro que no registró cambios a lo largo de las tres dosis evaluadas en los cinco venenos.

En este estudio, los niveles de glucosa y amilasa en sangre presentaron un aumento con todos los venenos evaluados, sin embargo, *T. festae*, *C. bicolor* y *C. limbatus* generaron un mayor aumento de glucosa en las tres dosis evaluadas, *Tityus (Atreus) sp.* y *T. championi*, generaron un aumento en la dosis de 0.5 y 1, sin embargo, la amilasa aumentó en todas las dosis evaluadas, pero mostró un mayor aumento con el veneno de *C. bicolor*. Estos 2 parámetros se utilizan como pruebas para evaluar la función pancreática. El aumento de glucosa podría explicarse por acción de las neurotoxinas de escorpión al actuar sobre el sistema nervioso simpático. El sistema nervioso simpático libera adrenalina que puede estimular directamente la glucogenólisis en el hígado y en el músculo esquelético (Borges et al., 2015; Verberne et al., 2016). Se cree que la glucogenólisis se produce por la activación de la glucógeno fosforilasa mediada por los receptores adrenérgicos β_1 en el músculo y en el hígado, así mismo, la acción de la adrenalina sobre las células β del páncreas inhibe la secreción de insulina mediada por los receptores α_2 (Izquierdo & Rodríguez Buitrago, 2012) y se ha reportado que estos efectos se ven en las primeras horas del envenenamiento (D'Suze et al., 2011). A su vez, los niveles de glucosa elevado estarían relacionados con aumento de la amilasa sérica, debido a que se puede dañar el páncreas exocrino, sin embargo, cuando la glucosa permanece elevada aún a las 24 horas de envenenamiento, se debe pensar que las toxinas presentes

en el veneno de escorpión han alterado la fisiología del páncreas endocrino (Cáceres et al., 2022; D'Suze et al., 2011). El páncreas es una glándula que se divide en una parte exocrina y endocrina (Mendoza-Tobar et al., 2021). El desarrollo de una pancreatitis aguda debida a un envenenamiento escorpiónico se ve, principalmente, en el páncreas exocrino, induciendo desgranulación y vacuolización de los acinos, reducción de gránulos de cimógeno y dilatación de conductos pancreáticos (Cáceres et al., 2022). Sin embargo, se han reportado daños severos del páncreas endocrino con hiperplasia de los islotes de Langerhans, pérdida de microvellosidades, degeneración de organelos citoplásmicos, modificaciones en la membrana apical, necrosis, inhibición de la secreción de insulina e hiperglicemia; en este sentido, se genera un aumento significativo de la amilasa (D'Suze et al., 2011). Estas características han sido observadas en envenenamientos de animales y humanos por especies de escorpiones de la familia Buthidae, por ejemplo, con *C. margaritatus*, *T. asthenes*, *T. n. sp. af. metuendus*, *T. pachyurus* y *T. serrulatus* (Barona et al., 2004; Borges et al., 2015; Bucarechi et al., 2016; Izquierdo & Rodríguez Buitrago, 2012; Mendoza-Tobar et al., 2021; Montilla, 2016; Ribeiro et al., 2010).

Otros parámetros evaluados fueron la actividad enzimática de la CK y la CK-MB; ambas pruebas utilizadas dentro de la batería para evaluar daño cardíaco (Sahin et al., 2015). En esta investigación, estos parámetros fueron alterados por los cinco venenos. La enzima CK está ubicada en el cerebro, músculo cardíaco y músculo estriado (Saad et al., 2022). Por tanto, el aumento de CK que se registró, en este estudio, podría deberse a la liberación prolongada de ACh en la placa terminal del músculo esquelético que podría desencadenar una parálisis muscular o el desarrollo de fasciculaciones. Además, estaría implicado un canal de sodio dependiente del voltaje, en el que las toxinas de escorpiones actúen de forma directa, en este caso sería el canal de sodio Nav1.4 que está presente, principalmente, en el músculo esquelético (Trejo et al., 2012). Por otra parte, se sabe que los envenenamientos moderados y graves por picadura de escorpión causan daño al corazón generando miocarditis aguda, debido a la alta incidencia de cardiotoxinas que actúan directamente sobre el canal de sodio Nav1.5 (Pucca et al., 2015), pero otros autores, indican que el daño al miocardio se podría deber al efecto simpático de la adrenalina sobre los receptores β_1 , (De Roodt, 2015; Pucca et al., 2015). La actividad de CK-MB es específica y altamente sensible para detectar daño miocárdico en niños después del envenenamiento por escorpión, además, se ha conseguido una correlación directa entre los envenenamientos graves y el aumento de esta enzima, ya que es una isoenzima de origen cardíaco que ha sido correlacionada con el síndrome coronario agudo y se

usa como marcador temprano de daño cardíaco (D'Suze et al., 2011). Estos resultados sugieren que los venenos de escorpiones de Panamá pueden causar cuadros de envenenamiento, donde se desarrolle una falla respiratoria acompañada de edema pulmonar, arritmias, depresión miocárdica, shock que produciría coma o falla multiorgánica que podría generar la muerte de las personas. Además, estos resultados concuerdan con los reportados en humanos con envenenamiento por *T. asthenes* de Ecuador y *T. pachyurus* de Colombia (Borges et al., 2015; Izquierdo & Rodríguez Buitrago, 2012); así mismo, en estudios experimentales se ha reportado que los venenos de *T. fasciolatus*, *T. pachyurus* y *T. serrulatus* causan aumento de estas enzimas (Bucaretschi et al., 2016; Cusinato et al., 2010; Pinto et al., 2010).

Otros de los parámetros que se vieron aumentados fueron la creatinina y el nitrógeno de urea; estos parámetros son utilizados como biomarcadores de la función renal. En este sentido, observamos un aumento del nitrógeno de urea solo con los venenos de *Tityus (Atreus) sp.*, *T. championi* y *T. festae*, donde este último fue el que generó un mayor de este parámetro; sin embargo, la creatinina se elevó con todos los venenos y en todas las dosis evaluadas. La urea fue el primer biomarcador utilizado para medir la función renal, ya que junto a la tasa de excreción de amonio regula las funciones renales de concentración urinaria y de equilibrio ácido base respectivamente (Cruz Llanos & Cieza Zevallos, 2022). Por su parte, la creatinina es un producto metabólico no enzimático de la creatina y la fosfocreatina, que en condiciones normales se produce a una tasa constante desde el tejido muscular esquelético (Huidobro et al., 2018). Cabe mencionar que, los componentes tóxicos presentes en los venenos de escorpión pueden actuar de forma directa o indirecta sobre las células renales, causando mesangiólisis, glomerulonefritis, vasculitis, nefritis y nefrosis intersticial, necrosis cortical y necrosis tubular, además de hipoxia vascular e infarto renal (Oliveira et al., 2021). Como la principal vía de excreción del cuerpo humano son los riñones, estos poseen un mayor concentración de veneno por ser de rápida redistribución (Albuquerque et al., 2018; Boju et al., 2016), lo que explicaría el daño evidenciado en este órgano. Así mismo, se ha reportado que sustancias de alto peso molecular como la hialuronidasa y esfingomielinas presentes en los venenos de escorpiones pueden generar toxicidad directa sobre el tejido renal, es así como las toxinas que actúan sobre los canales de K^+ pueden mediar la vasoconstricción arteriolar al provocar una despolarización del músculo liso y, por lo tanto, la vasoconstricción de la arteria aferente de la nefrona, el desarrollo de una respuesta inflamatoria sistémica elevada, la activación del complemento, la miocarditis y la vasoconstricción general mediada por los neurotransmisores

adrenalina y noradrenalina pueden reducir el flujo sanguíneo renal provocando daño renal (Boju et al., 2016), de esta manera, podríamos decir que los escorpiones del género *Tityus* y *Centruroides* de Panamá pueden llegar a desarrollar una lesión renal aguda a causa del desarrollo de síndrome urémico hemolítico (Boju et al., 2016).

Otro parámetro bioquímico evaluado, en este estudio y que generó aumento, fue el sodio, cuyos valores se vieron afectados con los venenos del género *Tityus*, siendo más marcado con el veneno de *T. festae*. Este aumento de sodio se conoce como hipernatremia y se define cuando los valores de sodio se encuentran por encima de los valores normales, puede ser el resultado de una pérdida de agua como el caso de una deshidratación (Carrasco Vera, 2018). Se ha demostrado que en los envenenamientos escorpiónicos puede haber un cambio significativo en las concentraciones de electrolitos séricos lo que puede alterar la permeabilidad de la membrana celular y causar diarrea, por tanto, este trastorno de la motilidad intestinal asociado a la no absorción de los componentes puede explicar la diarrea (Pucca et al., 2015) y, por tanto, causar deshidratación que ha sido evidenciada, lo que resulta en un aumento de la concentración de sodio sérico. Este tipo de alteración electrolítica ha sido reportado por varios autores para el veneno de *T. serrulatus* (Cusinato et al., 2010; Pinto et al., 2010).

Otra técnica empleada, en este estudio, fue el análisis proteómico del veneno de *Tityus (Atreus) sp.*, que incluyó un fraccionamiento del veneno mediante la técnica de RP-HPLC, utilizando una columna C4, es importante señalar que es la primera vez que este veneno se fracciona, utilizando esta columna, ya que, previamente se han realizado estudios utilizando una columna C18 (Salazar et al., 2018). En los venenos de escorpiones, al utilizar una columna C4 o C8, se obtiene una retención óptima de péptidos y proteínas de gran tamaño como lo son las enzimas hialuronidasas, que se encargan de degradar el ácido hialurónico de la matriz extracelular, facilitando la absorción de las toxinas a la circulación sistémica (Abreu et al., 2020; Horta et al., 2014), por lo tanto, la columna C18, permite una separación máxima de biomoléculas con pesos moleculares más pequeño como las neurotoxinas que afectan los canales de sodio, potasio, cloro, calcio (Salazar et al., 2018) encargadas de generar los efectos adrenérgicos y colinérgicos, que se observaron en los diferentes sistemas, mediante el uso del tamizado hipocrático. Por otra parte, en el cromatograma

obtenido, fue evidente que la mayoría de los componentes del veneno de *Tityus (Atreus) sp.*, eluyeron entre los tiempos de 30 a 60 minutos, como lo describe (Rodríguez-Ravelo et al., 2013).

Del perfil cromatográfico obtenido se inyectó tres fracciones en músculo gastrocnemios de ratones para determinar actividad miotóxica mediante el aumento de la enzima CK, de las cuales las dos con tiempo de retención 37.248 y 37.993 minutos, son las fracciones mayoritarias y la tercera fracción probada con tiempo de retención 50.775 minutos, es una aparente enzima hialuronidasa, como lo demuestra el ensayo actividad hialuronidasa realizado, en este caso las tres fracciones inyectadas no generaron un aumento significativo de la enzima CK en suero al compararla con el grupo control. Sin embargo, se ha encontrado fracciones de venenos de escorpiones que, inoculadas vía intramuscular generan un aumento de la enzima CK, incluso 28 veces más en comparación al control (Escobar et al., 2002, 2003, 2013; Pessini et al., 2001). Estos resultados podrían explicarse por tres razones por las cuales no encontramos actividad enzimática de la CK en suero, entre ellas están:

1. La técnica de fraccionamiento utilizada: en los estudios de (Abreu et al., 2020; Escobar et al., 2002, 2013; Horta et al., 2014), se reporta el uso de la técnica de cromatografía líquida de presión de flujo (FPLC) y columnas CM Sephadex C-25 de intercambio catiónico y en este estudio se utilizó HPLC con una columna C4.
2. La cantidad de la fracción administrada: se administró 10µg y los reportes de Escobar y colaboradores, en el 2002, evidencian el aumento de la enzima 28 veces más en comparación al grupo control, al inocular 40 µg de la fracción de veneno de *Hadruioides lunatus*, en el músculo gastrocnemios de ratón. Así mismo, en el 2003, Escobar y colaboradores, inyectaron 26.8 µg de la toxina denominada HL3 del veneno de *H. lunatus* en el músculo gastrocnemios de ratón y demostraron que esa toxina, era capaz de alterar la permeabilidad del sarcolema, ocasionando la liberación de la enzima CK en suero, así como de otras enzimas que se aumentan por daño muscular como la LDH. En el 2004, Velásquez & Escobar, administraron 30.4 µg de una fracción obtenida del veneno de *Hadruioides mauriyi*, y encontraron que esta fracción, afectaba la permeabilidad de la membrana del músculo esquelético provocando la liberación de la enzima CK.
3. Otra posible razón sería que las fracciones probadas no son fracciones capaces de generar un daño muscular, y por ende aumentar los niveles de la enzima CK en suero.

Para la actividad enzimática de la hialuronidasa, en el zimograma se muestra la presencia de 4 bandas blancas, que pesan aproximadamente 30, 31, 44 y 24 kDa. Cabe mencionar que, se han determinado masas moleculares específicas de enzimas hialuronidasas, para otros venenos de escorpiones de la familia Buthidae, y que son propias de cada veneno, como lo son la hialuronidasa de *H. juncus*, con peso aproximado de 45 kDa (Rodríguez-Ravelo et al., 2013), la denominada BmHYA1 del veneno de *Buthus martensi* (actualmente llamado *Mesobuthus martensii*), con peso de 48.6 kDa (Feng et al., 2008), así mismo, para el veneno de *T. serrulatus* se ha identificado una hialuronidasa de peso de 51 kDa (Pessini et al., 2001), el escorpión *C. limpidus limpidus* exhibe una hialuronidasa de 47,5 kDa (Cévallos et al., 1992). Se ha demostrado que, las hialuronidasas son responsables de la difusión de las toxinas desde el torrente sanguíneo hasta los órganos dianas, siendo esto muy importante para la aparición de efectos de envenenamiento sistémico (Escobar et al., 2013; Guerra-Duarte et al., 2019), así, lo demostraron Pessini y colaboradores en el 2001, cuando inocularon una toxina aislada de *T. serrulatus* (TsTx-1) en conjunto a una hialuronidasa, y evidenciaron cambios muy significativos en los niveles séricos de enzimas como: la CK, LDH y AST, en comparación de cuando solo inocularon la TsTx-1, sin embargo, la hialuronidasa por sí sola, no generó cambios en esos parámetros, cuando se comparó con los controles en ese estudio, lo que puede afirmar que, las hialuronidasas actúan como catalizadoras del envenenamiento escorpiónico (Abreu et al., 2020; De Oliveira-Mendes et al., 2019; Horta et al., 2014).

CONCLUSIONES

- Se evaluaron los efectos toxinológicos de los venenos de escorpiones del género *Tityus* y *Centruroides* de Panamá mediante las manifestaciones clínicas y los hallazgos de laboratorio, por lo que en esta investigación se llegaron a las siguientes conclusiones:
- Se evidenciaron los signos de intoxicación del envenenamiento en los diferentes aparatos y sistemas que produjeron los venenos de *Tityus (Atreus) sp.*, *T. championi*, *T. festae*, *C. bicolor* y *C. limbatus* en ratones CD-1 en diferentes dosis mediante la técnica de tamizado hipocrático, en donde los efectos más evidenciados fueron la sialorrea, lacrimación, cromodacriorrea, taquipnea, parálisis de patas, ataxia, convulsiones y muerte.
- Se evaluaron las alteraciones en el hemograma completo producto del envenenamiento agudo causadas por diferentes dosis de los venenos de *Tityus (Atreus) sp.*, *T. championi*, *T. festae*, *C. bicolor* y *C. limbatus* por técnicas de espectrofotometría, principio Coulter y frotis de sangre periférica, en donde encontramos que, *T. festae* fue el que causó una mayor alteración de los parámetros hematológicos en ratones CD-1.
- Se determinaron cambios en los parámetros de laboratorio durante la fase del envenenamiento agudo causado por diferentes dosis de los veneno de *Tityus (Atreus) sp.*, *T. championi*, *T. festae*, *C. bicolor* y *C. limbatus* mediante la técnica de espectrofotometría UV/visible, y se encontró que, los cinco venenos de escorpiones generaron cambios en los valores de glucosa, amilasa, CK, CK-MB, creatinina y sodio, sin embargo, sólo los venenos del género *Tityus* causaron alteración en el nitrógeno de urea, además, no se encontró alteración del potasio causado ninguno de los venenos al ser evaluados en ratones CD-1.
- Se fraccionó el veneno de *Tityus (Atreus) sp.* utilizando la técnica de cromatografía líquida de alta resolución de fase reversa en donde se obtuvieron 46 picos cromatográficos bien definidos.
- No se encontró fracciones en el veneno de *Tityus (Atreus) sp.* que generaran un aumento de la enzima CK.
- Se encontraron cuatro fracciones del veneno de *Tityus (Atreus) sp.* que presentan actividad biológica, evaluada a través de la prueba *in vitro* de actividad hialuronidasa.

RECOMENDACIONES

En base a los resultados obtenidos en este estudio, podemos hacer las siguientes recomendaciones:

1. Realizar otros estudios específicos para evaluar las actividades tóxicas relacionadas al daño en los diferentes aparatos y sistemas causados por los venenos de *Tityus (Atreus) sp.*, *T. championi*, *T. festae*, *C. bicolor*, *C. limbatus*, como inducción de edema agudo de pulmón, estudios histológicos de los principales órganos afectados en caso de envenenamiento escorpiónico.
2. Realizar otras pruebas de laboratorio que ayuden a extrapolar el daño ocasionado por las toxinas del veneno de los escorpiones, tales como: enzimas hepáticas (AST, ALT, ALP, bilirrubinas), calcio sérico, lactato deshidrogenasa, péptido natriurético tipo B (BNP), propéptido natriurético cerebral N-terminal (NT-ProBNP).
3. Seguir fraccionando, purificar y secuenciar las fracciones que generen un aumento de la enzima CK en suero de ratones, así como las fracciones que dieron positivo para la prueba de hialuronidasa con el veneno de *Tityus (Atreus) sp.* y probar, directamente su actividad biológica en ratones.
4. Seguir fraccionando el veneno y probando las fracciones, para encontrar una o varias fracciones capaces de generar el aumento de la enzima CK, ya que, con la inoculación del veneno entero de *Tityus (Atreus) sp.* se evidenció el incremento de esta enzima.

BIBLIOGRAFÍA

- Abbas, A. K., Lichtman, A. H., & Pillai, S. (2012). *Inmunología celular y molecular* (7ma. Edición).
- Abreu, C. B., Bordon, K. C. F., Cerni, F. A., Oliveira, I. S., Balenzuela, C., Alexandre-Silva, G. M., Zoccal, K. F., Reis, M. B., Wiesel, G. A., Peigneur, S., Pinheiro-Júnior, E. L., Tytgat, J., Cunha, T. M., Quinton, L., Faccioli, L. H., Arantes, E. C., Zottich, U., & Pucca, M. B. (2020). Pioneering Study on *Rhopalurus crassicauda* Scorpion Venom: Isolation and Characterization of the Major Toxin and Hyaluronidase. *Frontiers in Immunology*, 11. <https://doi.org/10.3389/FIMMU.2020.02011/FULL>
- Acevedo T., S., & Ramírez L., M. (2010). Diagnóstico de policitemia absoluta como posible causa de episodios convulsivos en un perro. *Revista MVZ Córdoba*, 15(3), 2245-2251.
- Ahmadi, S., Knerr, J. M., Argemi, L., Bordon, K. C. F., Pucca, M. B., Cerni, F. A., Arantes, E. C., Çalışkan, F., & Laustsen, A. H. (2020). Scorpion venom: Detriments and benefits. En *Biomedicines* (Vol. 8, Número 5). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/BIOMEDICINES8050118>
- Albuquerque, P. L. M. M., Magalhaes, K. do N., Sales, T. de C., Paiva, J. H. H. G. L., Daher, E. de F., & da Silva Junior, G. B. (2018). Acute kidney injury and pancreatitis due to scorpion sting: Case report and literature review. En *Revista do Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo* (Vol. 60). Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo. <https://doi.org/10.1590/s1678-9946201860030>
- Almeida, A. C. C. de, Mise, Y. F., Carvalho, F. M., & Silva, R. M. L. da. (2021). Ecological association between socioeconomic, occupational and sanitation factors and the occurrence of scorpionism in Brazil, 2007-2019. *Epidemiologia e Serviços de Saúde*, 30(4), e2021009. <https://doi.org/10.1590/S1679-49742021000400021>
- Alves, R. D. S., Falcão Do Nascimento, N. R., Ferreira Barbosa, P. S., Kerntopf, M. R., Abreu Lessa, L. M., De Sousa, C. M., Martins, R. D., Sousa, D. F., Rodrigues De Queiroz, M. G., Toyama, M. H., Fonteles, M. C., Costa Martins, A. M., & Azul Monteiro, H. S. (2005). Renal effects and vascular reactivity induced by *Tityus serrulatus* venom. *Toxicon*, 46(3), 271-276. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2005.04.013>
- Amaru Lucana, R., & Vera Carrasco, O. (2016). Guía para el diagnóstico y tratamiento de las eritrocitosis patológicas en la altura. *Revista de Medicina La Paz*, 22(2), 70-77.
- Amaya-Rodríguez, C., Acosta de Patiño, H., Young, J., & Montenegro, G. (2022). Experimental evaluation of the pulmonary edema induced by the venom of the scorpion

- Tityus asthenes* in rats. *Journal of Experimental and Molecular Biology*, 23, 15-21. <https://doi.org/10.47743/jemb-2022-61>
- Amorim, F. G., Longhim, H. T., Cologna, C. T., Degueldre, M., De Pauw, E., Quinton, L., & Arantes, E. C. (2019). Proteome of fraction from *Tityus serrulatus* venom reveals new enzymes and toxins. *Journal of Venomous Animals and Toxins Including Tropical Diseases*, 25. <https://doi.org/10.1590/1678-9199-jvatitd-1482-18>
- Arandia C., V., & Bertrand N, P. (2018). Mecanismos fisiopatológicos de taquipnea. Physiopathological mechanisms of tachypnea. In *Neumol Pediatr* (Vol. 13, Issue 3).
- Arjona C., R. (2022). *Informe Epidemiológico de la picadura de alacrán y mordedura de ofidio, en la República de Panamá. Años: 2020 - 2021.*
- Arjona, R. (2017). Informe Epidemiológico de las picaduras de alacrán en la República de Panamá. *Ministerio de Salud de Panamá, 2016*, 1-5.
- Avilés-Marínez, K. I., Montaña-Dorado, C. J., & García-Armenta, M. B. (2016). Envenenamiento por picadura de alacrán. Presentación de un caso clínico. *Acta Pediátrica Española*, 74(6), e125-e130.
- Bahloul, M., Chaari, A., Dammak, H., Samet, M., Chtara, K., Chelly, H., Ben Hamida, C., Kallel, H., & Bouaziz, M. (2013). Pulmonary edema following scorpion envenomation: Mechanisms, clinical manifestations, diagnosis and treatment. *International Journal of Cardiology*, 162(2), 86-91. <https://doi.org/10.1016/J.IJCARD.2011.10.013>
- Bahloul, M., Chaari, A., Khlaf-Bouaziz, N., Hergafi, L., Ksibi, H., Kallel, H., Chaari, A., Chelly, H., Ben Hamida, C., Rekik, N., & Bouaziz, M. (2005). Gastrointestinal manifestations in severe scorpion envenomation. *Gastroenterologie Clinique et Biologique*, 29(10), 1001-1005. [https://doi.org/10.1016/S0399-8320\(05\)88173-4](https://doi.org/10.1016/S0399-8320(05)88173-4)
- Bahloul, M., Regaieg, K., Chabchoub, I., Kammoun, M., Chtara, K., & Bouaziz, M. (2017). Severe scorpion envenomation: pathophysiology and the role of inflammation in multiple organ failure. *Medecine et sante tropicales*, 27(2), 214-221. <https://doi.org/10.1684/MST.2017.0688>
- Bahloul, M., Rekik, N., Chabchoub, I., Chaari, A., Ksibi, H., Kallel, H., Damak, H., Chaari, A., Ben Hamida, C., Chelly, H., & Bouaziz, M. (2005). Neurological complications secondary to severe scorpion envenomation. *Medical Science Monitor*, 11(4), 196-202. <http://www.medscimonit.com/abstract/index/idArt/15884>
- Barona, J., Otero, R., & Núñez, V. (2004). Aspectos toxinológicos e inmunoquímicos del veneno del escorpión *Tityus pachyurus* Pocock de Colombia: capacidad neutralizante de

- antivenenos producidos en Latinoamérica. *Biomédica*, 24(1), 42. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v24i1.1247>
- Bartok, A., Panyi, G., & Varga, Z. (2015). Potassium Channel Blocking Peptide Toxins from Scorpion Venom. En P. Gopalakrishnakone, L. D. Possani, R. C. Rodríguez de la Vega, & E. F. Schwartz (Eds.), *Scorpion Venoms* (Vol. 4, p. 493).
- Basu, A., Gomes, A., Gomes, A., Dasgupta, S. C., & Lahiri, S. C. (1990). Histamine, 5-HT & hyaluronidase in the venom of the scorpion *Lychas laevifrons* (Pock). *Indian Journal of Medical Research*, 92(371-3).
- Berry, M. N., Mazzachi, R. D., Pejakovic, M., & Peake, M. J. (1988). Enzymatic determination of sodium in serum. *Clinical chemistry*, 34(11), 2295-2298.
- Berthelot, M. (1859). Berthelot's Reaction Mechanism. *Report de Chimie Applique*, 2884.
- Boju, S. L., Mogili, H. K. R., Ram, R., & Vishnubotla, S. K. (2016). Nephrotic syndrome after scorpion sting. *CEN Case Reports*, 5(1), 83-86. <https://doi.org/10.1007/s13730-015-0197-7>
- Bordón, L., Paredes, W., Pacheco, R., Graneros, N., Tolosa, C., Galarza, G., & Godoy, D. A. (2018). Intracerebral Hemorrhage Secondary to Scorpion Toxin in the Northwest of Argentina; A Case Report. *Bulletin of Emergency & Trauma*, 6(3), 253. <https://doi.org/10.29252/BEAT-060312>
- Borges, A., Miranda, R. J., & Acosta, H. (2011). Los escorpiones y el escorpionismo en Panamá. En *Los escorpiones y el Escorpionismo en Panamá*.
- Borges, A., Miranda, R. J., & Pascale, J. M. (2012). Scorpionism in Central America, with special reference to the case of Panama. *Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases*, 18(2), 130-143. <https://doi.org/10.1590/S1678-91992012000200002>
- Borges, A., Morales, M., Loor, W., & Delgado, M. (2015). Scorpionism in Ecuador: First report of severe and fatal envenoming cases from northern Manabí by *Tityus asthenes* Pocock. *Toxicon*, 105, 56-61. <https://doi.org/10.1016/J.TOXICON.2015.08.019>
- Borges, A., Rojas-Runjaic, F. J. M., Diez, N., Faks, J. G., Op Den Camp, H. J. M., & De Sousa, L. (2010). Envenomation by the Scorpion *Tityus breweri* in the Guayana Shield, Venezuela: Report of a Case, Efficacy and Reactivity of Antivenom, and Proposal for a Toxinological Partitioning of the Venezuelan Scorpion Fauna. *Wilderness & Environmental Medicine*, 21(4), 282-290. <https://doi.org/10.1016/J.WEM.2010.06.008>

- Bravo Suárez, M. P., Zamora Suárez, A., & Mondragón Cardona, Á. (2017). Disfunción autonómica debido a accidente escorpiónico: reporte de caso. *Acta Medica Peruana*, 34(1), 49-51. <https://doi.org/10.35663/amp.2017.341.290>
- Bucaretschi, F., De Capitani, E. M., Fernandes, C. B., Santos, T. M., Zamilute, I. A. G., & Hyslop, S. (2016). Fatal ischemic stroke following *Tityus serrulatus* scorpion sting in a patient with essential thrombocythemia. *Clinical Toxicology*, 54(9), 867-870. <https://doi.org/10.1080/15563650.2016.1204454>
- Cáceres, E., Medina, M., Olmedo, C., Rojas, V., Melo, A., & Borges Strauss, A. (2022). La importancia médica del escorpionismo en Paraguay: revisión de la falla multisistémica asociada al envenenamiento y contribución a su diagnóstico diferencial. *Revista de la Sociedad Científica del Paraguay*, 27(2), 122-152. <https://doi.org/10.32480/rscp.2022.27.2.122>
- Carr, J., & Rodak, B. (2017). *Atlas de Hematología Clínica* (5ta Edición).
- Cévallos, M. A., Navarro-Duque, I. C., Varela-, I. M., Alagon I, A. C., Cevallos, M. A., Navarro-duque, C., Varela-tulia, M., & Alagon, A. C. (1992). Molecular mass determination and assay of venom hyaluronidases by sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis. *Toxicon: official journal of the International Society on Toxinology*, 30(8), 925-930. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0041-0101\(92\)90392-i](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0041-0101(92)90392-i)
- Chippaux, J. P., & Goyffon, M. (2008). Epidemiology of scorpionism: a global appraisal. *Acta tropica*, 107(2), 71-79. <https://doi.org/10.1016/J.ACTATROPICA.2008.05.021>
- Cid-Urbe, J. I., Veytia-Bucheli, J. I., Romero-Gutierrez, T., Ortiz, E., & Possani, L. D. (2020). Scorpion venomomics: a 2019 overview. *Expert Review of Proteomics*, 17(1), 67-83.
- Cleghorn, J. (2021). Partenogénesis del escorpión *Tityus asthenes* de Panamá. En *Comunicación personal*.
- Cohen, G., Burks, S., & Frank, J. (2018). Chlorotoxin—A Multimodal Imaging Platform for Targeting Glioma Tumors. *Toxins*, 10(12), 496. <https://doi.org/10.3390/toxins10120496>
- Cruz Llanos, L. E., & Cieza Zevallos, J. A. (2022). Relación entre el índice urémico y la función renal en pacientes con enfermedad renal crónica y en personas sanas. *Revista Médica Herediana*, 32(4), 216-223. <https://doi.org/10.20453/rmh.v32i4.4118>
- Cusinato, D. A. C., Souza, A. M., Vasconcelos, F., Guimarães, L. F. L., Leite, F. P., Gregório, Z. M. O., Giglio, J. R., & Arantes, E. C. (2010). Assessment of biochemical and

- hematological parameters in rats injected with *Tityus serrulatus* scorpion venom. *Toxicon*, 56(8), 1477-1486. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2010.09.003>
- Das, B., Saviola, A. J., & Mukherjee, A. K. (2021). Biochemical and Proteomic Characterization, and Pharmacological Insights of Indian Red Scorpion Venom Toxins. *Frontiers in Pharmacology*, 12. <https://doi.org/10.3389/FPHAR.2021.710680/FULL>
- De Albuquerque, C. M. R., Neto, P. de L. S., Amorim, M. L. P., & Pires, S. C. V. (2013). Pediatric epidemiological aspects of scorpionism and report on fatal cases from *Tityus stigmurus* stings (Scorpiones: Buthidae) in State of Pernambuco, Brazil. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 46(4), 484-489. <https://doi.org/10.1590/0037-8682-0089-2013>
- De Araújo, K. A. M., Tavares, A. V., Marques, M. R. de V., Vieira, A. A., & Leite, R. de S. (2017). Epidemiological study of scorpion stings in the Rio Grande do Norte State, Northeastern Brazil. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 59(58). <https://doi.org/10.1590/S1678-9946201759058>
- De Oliveira, N. A., Cardoso, S. C., Barbosa, D. A., & Da Fonseca, C. D. (2021). Acute kidney injury caused by venomous animals: Inflammatory mechanisms. En *Journal of Venomous Animals and Toxins Including Tropical Diseases* (Vol. 27). Centro de Estudos de Venenos e Animais Peconhentos. <https://doi.org/10.1590/1678-9199-JVATITD-2020-0189>
- De Oliveira-Mendes, B. B. R., Miranda, S. E. M., Sales-Medina, D. F., de Freitas Magalhães, B., Kalapothakis, Y., de Souza, R. P., Cardoso, V. N., Barros, A. L. B., Guerra-Duarte, C., Kalapothakis, E., & Horta, C. C. R. (2019). Inhibition of *Tityus serrulatus* venom hyaluronidase affects venom biodistribution. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 13(4). <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PNTD.0007048>
- De Roodt, A. R. (2015). Veneno de escorpiones (alacranes) y envenenamiento. *Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana*, 49(1), 55-71.
- De Sousa, L., Parrilla-Álvarez, P., Pérez, P., Gaeta, D. I., Romero, L., & Quiroga, M. (2009). Evaluación de la actividad biológica del veneno de *Tityus gonzalespongai* (Scorpiones, Buthidae) en ratones C57BL/6. *SABER. Revista Multidisciplinaria del Consejo de Investigación de la Universidad de Oriente*, 21(1), 47-59. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=427739438008>
- Díaz, C., Rivera, J., Lomonte, B., Bonilla, F., Diego-García, E., Camacho, E., Tytgat, J., & Sasa, M. (2019). Venom characterization of the bark scorpion *Centruroides edwardsii*

- (Gervais 1843): Composition, biochemical activities and in vivo toxicity for potential prey. *Toxicon*, 171, 7-19. <https://doi.org/10.1016/J.TOXICON.2019.09.021>
- Díaz, C., Serna-Gonzalez, M., Chang-Castillo, A., Lomonte, B., Bonilla, F., Alfaro-Chinchilla, A., Triana, F., & Sasa, M. (2023). Proteomic profile of the venom of three dark-colored *Tityus* (Scorpiones: Buthidae) from the tropical rainforests of Costa Rica. *Acta Tropica*, 248, 107031. <https://doi.org/10.1016/J.ACTATROPICA.2023.107031>
- Díaz-García, A., Laura Ruiz-Fuentes, J., Yglesias-Rivera, A., Rodríguez-Sánchez, H., Riquenes Garlobo, Y., Fleitas Martinez, O., & Fraga Castro, J. A. (2015). Enzymatic analysis of venom from Cuban scorpion *Rhopalurus junceus*. *Journal of Venom Research*, 6, 11. <https://pmc/articles/PMC4606921/>
- Diochot, S. (2021). Pain-related toxins in scorpion and spider venoms: a face to face with ion channels. En *Journal of Venomous Animals and Toxins Including Tropical Diseases* (Vol. 27). Centro de Estudos de Venenos e Animais Peconhentos. <https://doi.org/10.1590/1678-9199-JVATITD-2021-0026>
- D'Suze, G., Sevcik, C., & Brazón, J. (2011). Fisiopatología inducida por el veneno de alacranes del género *Tityus* de Venezuela. En G. D'Suze, G. Corzo Burguete, & J. Paniagua Solís (Eds.), *Emergencias por aniamles ponzoñosos en las Américas* (pp. 31-63).
- Escobar, A., & Gómez González, B. (2008). Barrera hematoencefálica. Neurobiología, implicaciones clínicas y efectos del estrés sobre su desarrollo. *Revista Mexicana de Neurociencia*, 9(5), 395-405. <https://www.medigraphic.com/pdfs/revmexneu/rmn-2008/rmn085f.pdf>
- Escobar, E., Rivera, C., & Tincopa, L. (2003). Acción de la toxina HI3 sobre músculo esquelético Action of toxin HI3 on skeletal muscle. *Revista Peruana de Biología*, 10(1), 88-92. <http://sisbib.unmsm.edu.pe/BVRevistas/biologia/biologiaNEW.htm>
- Escobar, E., Rivera, C., Tincopa, L., & Rivera, D. (2002). Purificación parcial de las toxinas HI1, HI2 y HI3 del veneno del escorpión *Hadruroides lunatus* Koch, 1867 (Scorpionida: Vejovidae). *Revista Peruana de Biología*, 9(1), 3-10. <https://doi.org/10.15381/rpb.v9i1.2511>
- Escobar, E., Tincopa, R., & Ochoa, J. A. (2013). Estudio bioquímico del veneno de *Tityus kaderkai* (Scorpiones-Buthidae) con notas sobre su distribución y hábitat en el Perú. *Revista Peruana de Biología*, 20(2), 151-158.

- Escudero-Sanjur, S., Castro-Perez, E., De Patiño, H. A., Rastogi, I., & Ramos, C. W. (2022). Genetic diversity of medically important scorpions of the genus *Centruroides* (Buthidae) from Panama including two endemic species. *Journal of Genetics*, 101(2). <https://doi.org/10.1007/s12041-022-01374-x>
- Fawcett, J. K., & Scott, J. E. (1960). A rapid and precise method for the determination of urea. *Journal of Clinical Pathology*, 13(2), 156. <https://doi.org/10.1136/JCP.13.2.156>
- Feng, L., Gao, R., & Gopalakrishnakone, P. (2008). Isolation and characterization of a hyaluronidase from the venom of Chinese red scorpion *Buthus martensi*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 148(3), 250-257. <https://doi.org/10.1016/J.CBPC.2008.06.003>
- Feola, A., Perrone, M. A., Piscopo, A., Casella, F., Della Pietra, B., & Di Mizio, G. (2020). Autopsy Findings in Case of Fatal Scorpion Sting: A Systematic Review of the Literature. *Healthcare*, 8(3). <https://doi.org/10.3390/HEALTHCARE8030325>
- Fereidooni, R., Shirzadi, S., Ayatizadeh, S. H., Bahloul, M., Tavangar, A., Zomorodian, S. A., Roshanshad, A., & Ardekaniid, A. (2023). Scorpion envenomation-associated myocarditis: A systematic review. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, 17(4), e0011219. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PNTD.0011219>
- Fletcher, P. L., Fletcher, M. D., Weninger, K., Anderson, T. E., & Martin, B. M. (2010). Vesicle-associated membrane protein (VAMP) cleavage by a new metalloprotease from the Brazilian scorpion *Tityus serrulatus*. *Journal of Biological Chemistry*, 285(10), 7405-7416. <https://doi.org/10.1074/jbc.M109.028365>
- Foo, A. Y., & Bais, R. (1998). Amylase measurement with 2-chloro-4-nitrophenyl maltotrioside as substrate. *Clinica Chimica Acta*, 272(2), 137-147. [https://doi.org/10.1016/S0009-8981\(98\)00009-6](https://doi.org/10.1016/S0009-8981(98)00009-6)
- Fukuhara, Y. D. M., Reis, M. L., Dellalibera-Joviliano, R., Cunha, F. Q. C., & Donadi, E. A. (2003). Increased plasma levels of IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-10 and TNF- α in patients moderately or severely envenomed by *Tityus serrulatus* scorpion sting. *Toxicon*, 41(1), 49-55. [https://doi.org/10.1016/S0041-0101\(02\)00208-8](https://doi.org/10.1016/S0041-0101(02)00208-8)
- Gay, C. C. (2021). Saunders Comprehensive Veterinary Dictionary. En *Saunders Comprehensive Veterinary Dictionary* (p. 168). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-7020-7463-9.50011-2>
- Giambelluca, L. A., González, S. E., Rodríguez Gil, S. G., González, A., Giambelluca*, L. A., González, S. E., Rodríguez Gil, S. G., & González, A. (2021). Distribución del

- género *Tityus* Koch, 1836 (Scorpiones: Buthidae) en la ciudad de La Plata (Argentina). *Revista Peruana de Biología*, 28(4), e21154. <https://doi.org/10.15381/rpb.v28i4.21154>
- Godoy, D. A., Badenes, R., Seifi, S., Salehi, S., & Seifi, A. (2021). Neurological and Systemic Manifestations of Severe Scorpion Envenomation. *Cureus*, 13(4). <https://doi.org/10.7759/CUREUS.14715>
- Gómez C., J. P., & Otero, R. (2007). Ecoepidemiology of scorpions of medical importance in Colombia. *Revista Facultad Nacional de Salud Pública*, 25(1), 50-60.
- Gómez, J. P., Quintana, J. C., Arbeláez, P., Fernández, J., Silva, J. F., Barona, J., Gutiérrez, J. C., Díaz, A., & Otero, R. (2010). Picaduras por escorpión *Tityus asthenes* en Mutatá, Colombia: aspectos epidemiológicos, clínicos y toxicológicos. En *Biomédica* (Vol. 30).
- Gómez, L. (2013). *Evaluación de la actividad antimicrobiana farmacológica y antioxidante de seis extractos metanólicos de plantas pertenecientes a la familia fabaceae*.
- González Rabelino, G. (2006). Parálisis flácida en la infancia. *Archivos de Pediatría del Uruguay*, 77(3), 308-312.
- Guadalajara Boo, J. F. (2006). *Entendiendo la insuficiencia cardíaca* (Vol. 76). www.archcardiolmex.org.mx
- Guerra-Duarte, C., Rebello Horta, C. C., Ribeiro Oliveira-Mendes, B. B., de Freitas Magalhães, B., Costal-Oliveira, F., Stransky, S., Fonseca de Freitas, C., Campolina, D., Pereira de Oliveira Pardo, P., Lira-da-Silva, R., Machado de Ávila, R. A., Kalapothakis, E., & Chávez-Olortegui, C. (2019). Determination of hyaluronidase activity in *Tityus* spp. Scorpion venoms and its inhibition by Brazilian antivenoms. *Toxicon*, 167, 134-143. <https://doi.org/10.1016/J.TOXICON.2019.06.019>
- Guimarães, P. T. C., Pinto, M. C. L., & Melo, M. M. (2011). Perfis clínico e hematológico de camundongos submetidos ao envenenamento escorpiônico experimental por *Tityus fasciolatus*. En *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v (Vol. 63, Número 6).
- Gurevitz, M., Gordon, D., Gur Barzilai, M., Kahn, R., Cohen, L., Moran, Y., Zilberberg, N., Froy, O., Altman-Gueta, H., Turkov, M., Dong, K., & Karbat, I. (2015). Molecular Description of Scorpion Toxin Interaction with Voltage-Gated Sodium Channels. En P. Gopalakrishnakone, L. D. Possani, R. C. Rodríguez de la Vega, & E. F. Schwartz (Eds.), *Scorpion Venoms* (Vol. 4, pp. 471-491).
- Hernández-Reyes, H. L. (2013). Avances y aplicación clínica de la citometría hemática automatizada. En *Inmunología y Hemoterapia* (Vol. 29, Número 1). <http://scielo.sld.cu>

- Horta, C. C. R., de Magalhães, B. F., Oliveira-Mendes, B. B. R., Carmo, A. O. do, Duarte, C. G., Felicori, L. F., Machado-de-Ávila, R. A., Chávez-Olórtegui, C., & Kalapothakis, E. (2014). Molecular, Immunological, and Biological Characterization of *Tityus serrulatus* Venom Hyaluronidase: New Insights into Its Role in Envenomation. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 8(2). <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0002693>
- Huidobro, J. P., Tagle, R., & Guzmán, M. A. (2018). Creatinina y su uso para la estimación de la velocidad de filtración glomerular. En *Artículo de revisión rev Med chile* (Vol. 146).
- Human Diagnostics Worldwide Amilasa. (2020). *Inserto de Amilasa*.
- Human Diagnostics Worldwide CK. (2020). *Inserto de CK*.
- Human Diagnostics Worldwide CK-MB. (2019). *Inserto de CK-MB*.
- Human Diagnostics Worldwide Creatinina. (2020). *Inserto de Creatinina*.
- Human Diagnostics Worldwide Glucosa. (2019). *Inserto de Glucosa*.
- Human Diagnostics Worldwide Potasio. (2018). *Inserto de Potasio*.
- Human Diagnostics Worldwide Sodio. (2016). *Inserto de Sodio*.
- Human Diagnostics Worldwide Urea. (2021). *Inserto de Urea*.
- Isbister, G. K., & Bawaskar, H. S. (2014). Scorpion Envenomation. *New England Journal of Medicine*, 371(5), 457-463. <https://doi.org/10.1056/NEJMra1401108>
- Izquierdo, L. M., & Rodríguez Buitrago, J. R. (2012). Cardiovascular dysfunction and pulmonary edema secondary to severe envenoming by *Tityus pachyurus* sting. Case report. *Toxicon*, 60(4), 603-606. <https://doi.org/10.1016/J.TOXICON.2012.05.021>
- Jaffe, M. (1886). Ueber den Niederschlag, welchen Pikrinsäure in normalem Harn erzeugt und über eine neue Reaction des Kreatinins. *Bioquímica*, 10(5), 391-400. <https://doi.org/10.1515/BCHM1.1886.10.5.391>
- Kikuchi-Utsumi, K., Ishizaka, M., Matsumura, N., & Nakaki, T. (2013). Alpha1A-adrenergic control of piloerection and palpebral fissure width in rats. *Autonomic Neuroscience*, 179(1-2), 148-150. <https://doi.org/10.1016/J.AUTNEU.2013.04.011>
- Kitanaka, J., Kitanaka, N., Scott Hall, F., Uhl, G. R., Tanaka, K. I., Nishiyama, N., & Takemura, M. (2012). Straub tail reaction in mice treated with $\sigma 1$ receptor antagonist in combination with methamphetamine. *Brain Research*, 1482, 40-46. <https://doi.org/10.1016/J.BRAINRES.2012.09.001>

- Konca, C., Tekin, M., Colak, P., Uckardes, F., & Turgut, M. (2014). An overview of platelet indices for evaluating platelet function in children with scorpion envenomation. *EXCLI Journal*, 13, 801. /pmc/articles/PMC4464311/
- Lam de Calvo, O. (2018). *El Sistema Nervioso Autónomo. Clase de Fisiología Humana*.
- Laraba-Djebari, F., Adi-Bessalem, S., & Hammoudi-Triki, D. (2015). Scorpion Venoms: Pathogenesis and Biotherapies. En P. Gopalakrishnakone, L. D. Possani, R. C. Rodríguez de la Vega, & E. F. Schwartz (Eds.), *Scorpion Venoms* (Vol. 4, pp. 63-85).
- León-Álvarez, D. E. (2013). *Neurofisiología de la náusea y vómito* (Vol. 36). <http://www.medigraphic.com/rmawww.medigraphic.org.mx>
- Loureço, W. R., & Méndez, E. (1984). Inventario preliminar sobre la fauna de escorpiones de Panamá, con algunas consideraciones taxonómicas y biogeográficas. *Revista De Biología Tropical*, 32(1), 85-93. <https://revistas.ucr.ac.cr/index.php/rbt/article/view/24845>
- Lourenço, W. R. (2020). The coevolution between telson morphology and venom glands in scorpions (Arachnida). *Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases*, 26. <https://doi.org/10.1590/1678-9199-jvatitd-2020-0128>
- Magalhães, M. M., Pereira, M. E. S., Amaral, C. F. S., Rezende, N. A., Campolina, D., Bucarechi, F., Gazzinelli, R. T., & Cunha-Melo, J. R. (1999). Serum levels of cytokines in patients envenomed by *Tityus serrulatus* scorpion sting. *Toxicon*, 37(8), 1155-1164. [https://doi.org/10.1016/S0041-0101\(98\)00251-7](https://doi.org/10.1016/S0041-0101(98)00251-7)
- Maheshwari, M., & Tanwar, C. P. (2012). Scorpion Bite Induced Myocardial Damage and Pulmonary Edema. *Heart Views: The Official Journal of the Gulf Heart Association*, 13(1), 16. <https://doi.org/10.4103/1995-705X.96663>
- Marchi, F. C., Mendes-Silva, E., Rodrigues-Ribeiro, L., Bolais-Ramos, L. G., & Verano-Braga, T. (2022). Toxinology in the proteomics era: a review on arachnid venom proteomics. En *Journal of Venomous Animals and Toxins Including Tropical Diseases* (Vol. 28). Centro de Estudos de Venenos e Animais Peconhentos. <https://doi.org/10.1590/1678-9199-JVATITD-2021-0034>
- Mazzei de Dávila, C. A., Dávila-Spinetti, D. F., Ramoni-Perazi, P., Donis, J. H., Santiago, J., Villarroel, V., & Arata de Bellarba, G. (2011). Epidemiología, clínica y terapéutica del accidente escorpiónico en Venezuela. En G. D'Suze, G. A. Corzo Burguete, & J. F. Paniagua Solís (Eds.), *Emergencias por animales ponzoñosos en las Américas* (pp. 115-146).

- Mendes, L. C., Viana, G. M. M., Nencioni, A. L. A., Pimenta, D. C., & Beraldo-Neto, E. (2023). Scorpion Peptides and Ion Channels: An Insightful Review of Mechanisms and Drug Development. En *Toxins* (Vol. 15, Número 4). MDPI. <https://doi.org/10.3390/toxins15040238>
- Mendoza-Tobar, L. L., Meza-Cabrera, I. A., Sepúlveda-Arias, J. C., & Guerrero-Vargas, J. A. (2021). Comparison of the Scorpionism Caused by *Centruroides margaritatus*, *Tityus pachyurus* and *Tityus n. sp. aff. metuendus* Scorpion Venoms in Colombia. *Toxins*, 13(11). <https://doi.org/10.3390/TOXINS13110757>
- Ministerio de Salud, P. (2016). *Guía para el manejo integral de la picadura de escorpión (alacrán) en la República de Panamá* (Impresions Carpal, Ed.).
- Miranda, R., & Armas, L. de. (2020). A new species of *Ananteris* (Scorpiones: Buthidae) from Panama. *Euscorpius*, 2020(297). <https://mds.marshall.edu/euscorpius/vol2020/iss297/1>
- Miranda, R. J., Bermúdez, S., Cleghorn, J., & Cambra, R. A. (2015). Presas de escorpiones (Arachnida: Scorpiones) de Panamá, con observaciones sobre el comportamiento de depredación. En *Revista Ibérica de Aracnología* (Vol. 12). <http://www.sea-entomologia.org>
- Miranda, R. J., Bermúdez, S., Flórez D., E., & De Armas, L. F. (2020). A new species of *Tityus* from Panama and Costa Rica previously identified as *Tityus pachyurus* Pocock, 1897 (Scorpiones: Buthidae). *Revista Ibérica de Aracnología*, 197-204.
- Miranda, R. J., Ríos, M., Murgas, I. L., Araúz, D., & Suárez, J. A. (2019). Escorpionismo por *Tityus championi* Pocock, en Panamá, reporte de caso (Scorpionism by *Tityus championi* Pocock, in Panama, case report). *Revista Médica de Panamá - ISSN 2412-642X*, 38(3). <https://doi.org/10.37980/im.journal.rmdp.2018485>
- Montilla, Y. (2016). *Envenenamiento experimental con veneno de escorpión en ratones: manifestaciones clínicas y hallazgos de laboratorio*.
- Montoya, M., & De Armas, L. F. (2002). Escorpiones (Arachnida) del Archipiélago de Bocas del Toro, Panamá. En *Rev. Biol. Trop* (Vol. 50, Número 1). www.ucr.ac.cr/www.ots.ac.cr/www.ots.duke.edu
- Morán González, M. (2018). *Envenenamiento experimental con veneno de escorpión Tityus asthenes en ratones: manifestaciones clínicas y hallazgos de laboratorio*.
- Murgas, I., Bermudez, S., & Miranda, R. (2020). Primer reporte de envenenamiento accidental por *Ananteris platnicki* Lourenco, 1993 (Scorpiones: Buthidae) en Panamá.

- Revista Médica de Panamá - ISSN 2412-642X*, 163-164.
<https://doi.org/10.37980/IM.JOURNAL.RMDP.20201725>
- Murthy, K. R. K. (2000). The scorpion envenoming syndrome: a different perspective. The physiological basis of the role of insulin in scorpion envenoming. *Journal of Venomous Animals and Toxins*, 6(1), 04-51. <https://doi.org/10.1590/S0104-79302000000100002>
- Naranjo, L., Carrillo-Villaseñor, F., D'Suze, G., Sevcik, C., Gundacker, N., Rao, A., Franco-Paredes, C., & Suárez, J. A. (2022). Ischemic Stroke in a Child after a Probable Scorpion Sting. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 106(3), 959. <https://doi.org/10.4269/AJTMH.21-0880>
- National Research Council. (2011). *Guía para el cuidado y uso de animales de laboratorio*. (Ediciones UC, Ed.).
- Nencioni, A. L. A., Carvalho, F. F., Lebrun, I., Dorce, V. A. C., & Sandoval, M. R. L. (2000). Neurotoxic Effects of Three Fractions Isolated from *Tityus serrulatus* Scorpion Venom. *Pharmacology & Toxicology*, 86(4), 149-155. <https://doi.org/10.1034/J.1600-0773.2000.860401.X>
- Nencioni, A. L. A., Lourenço, G. A., Lebrun, I., Florio, J. C., & Dorce, V. A. C. (2009). Central effects of *Tityus serrulatus* and *Tityus bahiensis* scorpion venoms after intraperitoneal injection in rats. *Neuroscience Letters*, 463(3), 234-238. <https://doi.org/10.1016/J.NEULET.2009.08.006>
- Nencioni, A. L. A., Neto, E. B., de Freitas, L. A., & Dorce, V. A. C. (2018). Effects of Brazilian scorpion venoms on the central nervous system. En *Journal of Venomous Animals and Toxins Including Tropical Diseases* (Vol. 24, Número 1). BioMed Central Ltd. <https://doi.org/10.1186/s40409-018-0139-x>
- Nunan, E. A., Moraes, M. F. D., Cardoso, V. N., & Moraes-Santos, T. (2003). Effect of age on body distribution of Tityustoxin from *Tityus serrulatus* scorpion venom in rats. *Life Sciences*, 73(3), 319-325. [https://doi.org/10.1016/S0024-3205\(03\)00264-9](https://doi.org/10.1016/S0024-3205(03)00264-9)
- Oliveira Collaço, R. D. C., Hyslop, S., Dorce, V. A. C., Antunes, E., & Rowan, E. G. (2019). Scorpion venom increases acetylcholine release by prolonging the duration of somatic nerve action potentials. *Neuropharmacology*, 153, 41-52. <https://doi.org/10.1016/J.NEUROPHARM.2019.04.013>
- Oliveira, I. S., Ferreira, I. G., Alexandre-Silva, G. M., Cerni, F. A., Cremonez, C. M., Arantes, E. C., Zottich, U., & Pucca, M. B. (2019). Scorpion toxins targeting Kv1.3 channels: insights into immunosuppression. *The Journal of Venomous Animals and Toxins*

- Including Tropical Diseases*, 25, 1481-18. <https://doi.org/10.1590/1678-9199-JVATITD-1481-18>
- Orphée®. (2021). *Inserto de kit reactivos de Mythic 18 VET M-PACK*.
- Ozkan O., U. R., Adiguzel, S., Cesaretly, Y., & Ertek, M. (2007). Evaluation of scorpions sting incidence in Turkey. *Journal of Venomous Animals and Toxins Including Tropical Diseases*, 14(1), 128-140.
- Padilla, A., Govezensky, T., Possani, L. D., & Larralde, C. (2003). Experimental envenoming of mice with venom from the scorpion *Centruroides limpidus limpidus*: differences in mortality and symptoms with and without antibody therapy relating to differences in age, sex and strain of mouse. *Toxicon*, 41(8), 959-965. [https://doi.org/10.1016/S0041-0101\(03\)00036-9](https://doi.org/10.1016/S0041-0101(03)00036-9)
- PanReac AppliChem. (2023). *Kit de tincion rapida en hematologia (panóptico rapido)*. 1-4.
- Park, S. B., & Khattar, D. (2023). Tachypnea. *Emergency and Office Pediatrics*, 8(1), 33. <https://doi.org/10.1542/pir.23.8.294>
- Parma, J. Á., & Palladino, C. M. (2010). Envenenamiento por escorpión en la Argentina. *Archivos Argentinos de Pediatría*, 108(2), 161-167.
- Pessini, A. C., Takao, T. T., Cavalheiro, E. C., Vichnewski, W., Sampaio, S. V., Giglio, J. R., & Arantes, E. C. (2001). A hyaluronidase from *Tityus serrulatus* scorpion venom: Isolation, characterization and inhibition by flavonoids. *Toxicon*, 39(10), 1495-1504. [https://doi.org/10.1016/S0041-0101\(01\)00122-2](https://doi.org/10.1016/S0041-0101(01)00122-2)
- Petricevich, V. L. (2010). Scorpion Venom and the Inflammatory Response. *Mediators of Inflammation*, 2010, 16. <https://doi.org/10.1155/2010/903295>
- Pinto, M. C. L., Melo, M. M., Costa, M. E. R., & Labarrere, C. R. (2010). Hematological and biochemical profiles of rats submitted to experimental poisoning with *Tityus serrulatus* venom. 350-356.
- Proctor, G. B., & Carpenter, G. H. (2007). Regulation of salivary gland function by autonomic nerves. En *Autonomic Neuroscience: Basic and Clinical* (Vol. 133, Número 1, pp. 3-18). <https://doi.org/10.1016/j.autneu.2006.10.006>
- Pucca, M. B., Cerni, F. A., Pinheiro Junior, E. L., Bordon, K. D. C. F., Amorim, F. G., Cordeiro, F. A., Longhim, H. T., Cremonez, C. M., Oliveira, G. H., & Arantes, E. C. (2015). *Tityus serrulatus* venom - A lethal cocktail. En *Toxicon* (Vol. 108, pp. 272-284). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2015.10.015>

- Pucca, M. B., Roncolato, E. C., Campos, L. B., Fernandes, F. S., Mendes, G. R., Bertolini, T. B., Cerni, F. A., & Barbosa, J. E. (2011). Experimental *Tityus serrulatus* scorpion envenomation: Age and sex related differences in symptoms and mortality in mice. *Journal of Venomous Animals and Toxins Including Tropical Diseases*, 17(3), 325-332. <https://doi.org/10.1590/s1678-91992011000300013>
- Quintero-Hernández, V., Jiménez-Vargas, J. M., Gurrola, G. B., Valdivia, H. H., & Possani, L. D. (2013). Scorpion venom components that affect ion-channels function. *Toxicon: Official Journal of the International Society on Toxinology*, 76, 328-342. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2013.07.012>
- Ramires, E. N., Navarro-Silva, M. A., & de Assis Marques, F. (2011). Chemical Control of Spiders and Scorpions in Urban Areas. En Stoytcheva (Ed.), *Pesticidas en el mundo moderno. Control de plagas y evaluación de la exposición y toxicidad de los pesticidas*. <https://doi.org/10.5772/16562>
- Ramírez Sánchez, M. S., Pérez, K. E., Breña, N., & Pacheco Fuentes, J. (2010). Emergencia hipertensiva en emponzoñamiento escorpiónico pediátrico: Reporte de un caso. *Archivos Venezolanos de Puericultura y Pediatría*, 73(2), 29-34.
- Razi, E., & Malekanrad, E. (2008). Asymmetric pulmonary edema after scorpion sting: A case report. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo*, 50(6), 347-350. <https://doi.org/10.1590/S0036-46652008000600007>
- Reddy Rakesh, C., Bompelli, N., Khardenavis, V., & Deshpande, A. (2017). Scorpion bite-induced ischaemic stroke. *BMJ Case Reports*, 2017. <https://doi.org/10.1136/bcr-2017-221606>
- Ribeiro, E. L., Melo, M. M., Pinto, M. C. L., Labarrère, C. R., Guimarães, P. T. C., Paes, P. R. O., & Leme, F. O. P. (2009). Hemograma de cães submetidos ao envenenamento experimental por *Tityus serrulatus*. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 61(1), 135-143.
- Ribeiro, E. L., Pinto, M. C. L., Labarrère, C. R., Paes, P. R. O., Paes-Leme, F. O., Chávez-Olórtegui, C., & Melo, M. M. (2010). Biochemical profile of dogs experimentally envenomed with *Tityus serrulatus* scorpion venom. *Toxicon*, 55(6), 1125-1131. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2010.01.001>
- Risling, T. E., Caulkett, N. A., & Florence, D. (2012). Open-drop anesthesia for small laboratory animals. *The Canadian Veterinary Journal*, 53(3), 299. [/pmc/articles/PMC3280786/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC3280786/)

- Rodríguez, A., Rodríguez, Y., Yusef, F., Trejo, E., Rossini, M., & Zerpa, H. (2015). Hematological Alterations Induced by *Tityus discrepans* Scorpion Venom in Mice. *Rev. Fac. Cienc. Vet.*, 56(1), 009-016.
- Rodríguez, E. (2007). Ética de la Investigación en Modelos Animales de Enfermedades Humanas. *Doctor*, 13(1), 25-40.
- Rodríguez Solís, A. J., Villegas Villarreal, E. C., & Corzo Burguete, G. A. (2014). Venenos arácnidos: su sorprendente poder insecticida y su rara capacidad antibiótica. *Revista Digital Universitaria*, 15(11). <http://www.revista.unam.mx/vol.15/num11/art85/>
- Rodríguez-Acosta, A., & Finol, H. (2000). Salivary gland ultrastructural alterations in mice inoculated with *Tityus discrepans* (Buthidae) venom. En *Article in Journal of Submicroscopic Cytology and Pathology*. <https://www.researchgate.net/publication/12243007>
- Rodríguez-Ravelo, R., Coronas, F. I. V, Zamudio, F. Z., González-Morales, L., López, G., Urquiola, A., & Possani, L. D. (2013). The Cuban scorpion *Rhopalurus junceus* (Scorpiones, Buthidae): component variations in venom samples collected in different geographical areas. *Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases*, 19(1), 13. <https://doi.org/10.1186/1678-9199-19-13>
- Romero, N., & Hernández, J. (2005). Cerebral edema associated to scorpion sting: a two-case sting report. *Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases*, 11(4), 594-600.
- Rostagno, G., & Saenz, S. (2019). Escorpionismo en pacientes pediátricos internados en terapia intensiva. Serie de casos. *Archivos Argentinos de Pediatría*, 117(4), 7-10. <https://doi.org/10.5546/aap.2019.e368>
- Saad, E. J., Ruiz, A. R., Barrionuevo, A. D. y, Milanésio, M., Balverdi, J. F., Riscanevo, N. C., Peñaranda, G. E., Novatti, E. B., Saurit, V., Alvarez, A. C., & Baenas, D. F. (2022). Estudio de los pacientes con elevación de enzima Creatinfosfokinasa en dos hospitales de tercer nivel de la ciudad de córdoba. *Revista de la Facultad de Ciencias Médicas*, 79(4), 327. <https://doi.org/10.31053/1853.0605.V79.N4.36031>
- Sahin, C., Acar, E., Beydilli, H., Mert, K. U., Akin, F., & Altun, I. (2015). Acute Toxic Myocarditis and Pulmonary Oedema Developing from Scorpion Sting. *International Cardiovascular Research Journal*, 9(1), 55-59.
- Salazar, M. H., Arenas, I., Corrales-García, L. L., Miranda, R., Vélez, S., Sánchez, J., Mendoza, K., Cleghorn, J., Zamudio, F. Z., Castillo, A., Possani, L. D., Corzo, G., &

- Acosta, H. (2018). Venoms of *Centruroides* and *Tityus* species from Panama and their main toxic fractions. *Toxicon*, 141, 79-87. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2017.11.013>
- Salazar, M. H., Ortiz, M. H., Encarnación, S., Zamudio, F., Possani, L. D., Cleghorn, J., Morán, M., Acosta, H., & Corzo, G. (2023). A proteomic overview of the major venom components from *Tityus championi* from Panama. *Toxicon*, 227, 107082. <https://doi.org/10.1016/J.TOXICON.2023.107082>
- Saldarriaga Córdoba, M. M., & Otero Patiño, R. (2000). Los escorpiones: aspectos ecológicos, biológicos y toxinológicos. En *MedUNAB*, 3(7) 17-23).
- Sánchez Palomino, P., Montenegro, O. L., & Meza-González, E. (2020). Anestesia de roedores sigmodontinos en condiciones de campo. *Revista de Medicina Veterinaria*, 1(40), 69-83. <https://doi.org/10.19052/mv.vol1.iss40.7>
- Santos, R., & Carlini, E. A. (1988). Red lacrimal secretion (chromodacryorrhea) induced by cholinergic drugs in rats subjected to the watertank technique. *Pharmacology*, 36(1), 61-68. <https://doi.org/10.1159/000138347>
- Santos-da-Silva, A. de P., Candido, D. M., Nencioni, A. L. A., Kimura, L. F., Prezotto-Neto, J. P., Barbaro, K. C., Chalkidis, H. M., & Dorce, V. A. C. (2017). Some pharmacological effects of *Tityus obscurus* venom in rats and mice. *Toxicon*, 126, 51-58. <https://doi.org/10.1016/J.TOXICON.2016.12.008>
- Saravia Gómez, A. (2004). *Manual de ensayos toxicológicos y farmacológico experimentales in vivo e in Vitro*.
- Schumann, G., Bonora, R., Ceriotti, F., Clerc-Renaud, P., Ferrero, C. A., Féraud, G., Franck, P. F. H., Gella, F. J., Hoelzel, W., Jørgensen, P. J., Kanno, T., Kessner, A., Klauke, R., Kristiansen, N., Lessinger, J. M., Linsinger, T. P. J., Misaki, H., Panteghini, M., Pauwels, J., ... Siekmann, L. (2002). IFCC primary reference procedures for the measurement of catalytic activity concentrations of enzymes at 37°C. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*, 40(6), 635-642. <https://doi.org/10.1515/CCLM.2002.110/MACHINEREADABLECITATION/RIS>
- Simone, Y., & Van Der Meijden, A. (2021). Armed stem to stinger: A review of the ecological roles of scorpion weapons. *The Journal of Venomous Animals and Toxins Including Tropical Diseases*, 27. <https://doi.org/10.1590/1678-9199-JVATITD-2021-0002>
- Solano-Godoy, J. A., González-Gómez, J. C., Torres-Bonilla, K. A., Floriano, R. S., Santa Fé Miguel, A. T., & Murillo-Arango, W. (2021). Comparison of biological activities of *Tityus pachyurus* venom from two Colombian regions. *The Journal of Venomous*

- Animals and Toxins Including Tropical Diseases*, 27. <https://doi.org/10.1590/1678-9199-JVATITD-2021-0005>
- Sonmez, O., & Sonmez, M. (2017). Role of platelets in immune system and inflammation. *Porto Biomedical Journal*, 2(6), 311-314. <https://doi.org/10.1016/J.PBJ.2017.05.005>
- Soto-Alfaro, T. V., Muñoz-Medina, C. E., Rodríguez G., J. J., & Parrilla-Álvarez, P. E. (2019). Efectos clínicos e histopatológicos agudos y subagudos del veneno de *Tityus breweri* en miocardio de hamsters. *Revista Médica de Risaralda*, 25(2), 65-76.
- Sunagar, K., Undheim, E. A. B., Chan, A. H. C., Koludarov, I., Muñoz-Gómez, S. A., Antunes, A., & Fry, B. G. (2013). Evolution stings: The origin and diversification of scorpion toxin peptide scaffolds. *Toxins*, 5(12), 2456-2487. <https://doi.org/10.3390/toxins5122456>
- Tabacco, A., Meiattini, F., Moda, E., & Tarli, P. (1979). Simplified enzymic/colorimetric serum urea nitrogen determination. *Clinical chemistry*, 25(2), 336-337.
- Teruel, R. (2012). La verdadera identidad de *Tityus championi* Pocock 1898 (Scorpiones: Buthidae). *Boletín de la Sociedad Entomológica Aragonesa (S. E. A.)*, 48, 367-373.
- Teruel, R., & Cozijn, M. A. C. (2011). Euscorpius Occasional Publications in Scorpology A Checklist of the Scorpions (Arachnida: Scorpiones) of Panama, with Two New Records. Euscorpius Occasional Publications in Scorpology. <http://www.science.marshall.edu/fet/euscorpius/>
- Tiwari, A. K., Mandal, M. B., & Deshpande, S. B. (2009). Role of serotonergic mechanism in gastric contractions induced by Indian Red Scorpion (*Mesobuthus tamulus*) venom. *Indian Journal of Pharmacology*, 41(6), 255. <https://doi.org/10.4103/0253-7613.59923>
- Tiwari, R., Gupta, S., Kumar, A., Kumar, N., & Meena, L. (2020). Scorpion Bite Induced Myocardial Ischaemia and Pulmonary Edema. *Journal of Case Reports*, 10(1), 48-50. <https://doi.org/10.17659/01.2020.0013>
- Trejo, E., Borges, A., González de Alfonzo, R., Lippo de Becemberg, I., & Alfonzo, M. J. (2012). *Tityus zulianus* and *Tityus discrepans* venoms induced massive autonomic stimulation in mice. *Archivos Venezolanos de Farmacología y Terapéutica*, 31(1), 1-6. http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0798-02642012000100002&lng=es&nrm=iso&tlng=en
- Trejo, E., Borges, A., Nañez, B., Lippo de Becemberg, I., González de Alfonzo, R., & Alfonzo, M. J. (2012). *Tityus zulianus* venom induces massive catecholamine release from PC12

- cells and in a mouse envenomation model. *Toxicon*, 59(1), 117-123.
<https://doi.org/10.1016/J.TOXICON.2011.10.013>
- Trinder, P. (1969). Determination of blood glucose using an oxidase-peroxidase system with a non-carcinogenic chromogen. *Journal of Clinical Pathology*, 22(2), 158.
<https://doi.org/10.1136/JCP.22.2.158>
- Vega Benavente, C. A., Jarufe Gayoso, C. P., Valdebenito Candia, F. A., & López Arcos, E. (2020). Análisis de las Notificaciones Obligatorias de las Parálisis Flácidas en el Hospital Clínico Herminda Martín en el periodo enero 2016 - diciembre 2018. En *REVISTA ANACEM* (Vol. 14).
- Vera Carrasco, O. (2018). Hipertermias en el paciente en estado crítico. *Cuadernos Hospital de Clínicas*, 59(2), 55–62.
- Verberne, A. J. M., Korim, W. S., Sabetghadam, A., & Llewellyn-Smith, I. J. (2016). Adrenaline: insights into its metabolic roles in hypoglycaemia and diabetes. *British Journal of Pharmacology*, 173(9), 1425. <https://doi.org/10.1111/BPH.13458>
- Villa Manzano, A., Vázquez Solis, G. M., Zamora López, X. X., & Arias Coronado, F. (2016). Alacranismo severo causante de parálisis flácida aguda. Reporte de caso Scorpionism causing severe acute flaccid. *Revista Médica del Instituto Mexicano del Seguro Social*, 54(333), 265-268.
- Westfall, T., & Westfall, D. (2007). Neurotransmisión - Sistemas nerviosos autónomos y motor somático. En L. L. Brunton, J. S. Lazo, & K. L. Parker (Eds.), *Goodman & Gilman Las bases farmacológicas de la terapéutica* (Undécima, pp. 137-181).
- Würzburg, U., Hennrich, N., Lang, H., Prellwitz, W., Neumeier, D., & Knedel, M. (1976). Bestimmung der Aktivität von Creatinkinase MB im Serum unter Verwendung inhibierender Antikörper. *Klinische Wochenschrift*, 54(8), 357-360.
<https://doi.org/10.1007/BF01469790/METRICS>
- Yigit N, & Benli M. (2010). Fine structural analysis of the stinger in venom apparatus of the scorpion *Euscorpius mingrelicus* (Scorpiones: Euscorpiidae). *Journal of Venomous Animals and Toxins Including Tropical Diseases*, 16(1), 76-86.

ANEXOS

Anexo 1. Aval Ético proporcionado por el Comité de Ética de la Investigación y el Bienestar de los Animales de la Universidad de Panamá



UNIVERSIDAD DE PANAMÁ
VICERRECTORIA DE INVESTIGACION Y POSTGRADO



COMITÉ DE ÉTICA DE LA INVESTIGACIÓN Y EL BIENESTAR DE LOS ANIMALES (CEIBA)

Panamá, 6 de septiembre de 2022

CEIBA-UP-033-2022

Investigadora

MARICRUZ MORÁN

Facultad de Medicina

E. S. D.

El Comité de Ética de la Investigación y el Bienestar de los Animales de la Universidad de Panamá CEIBAUP, otorga aval al protocolo de investigación titulado: "ENVENENAMIENTO EXPERIMENTAL CON VENENO DE ESCORPIÓN EN RATONES: MANIFESTACIONES CLÍNICAS Y HALLAZGOS DE LABORATORIO" investigadora principal Maricruz Morán.

Se le agradece que finalizada la investigación haga entrega de una copia del informe final de esta investigación al CEIBAUP.

Atentamente,

Dr. Julio Ramos

Presidente

Anexo 2. Hoja de evaluación del tamizado hipocrático

Dosis:

Veneno de:

Sexo:

Signos de Env. Sist.	Tiempo	0	5 min	15 min	30 min	60 min	180 min	1440 min
Respuesta estereotipada	Limpieza de nariz/boca							
	Limpieza del cuerpo							
	Otra:							
Respiración	Bradipnea							
	Taquipnea							
	Respiración abdominal forzada							
	Contracción abdominal							
	Erección de la cola (Signo de Straub)							
	Piloerección							
	Micción							
Heces	Heces sólidas							
	Heces pastosa							
	Heces líquida							
Orejas	Palidez							
	Hiperemia							
	Cianosis							
Actividad motora	Hiperactividad							
	Hipoactividad							
	Ataxia							
Parálisis	Pérdida del reflejo de enderezamiento							
	Parálisis Pata Anterior							
	Parálisis Pata Trasera							
SNC	Analgesia (presión en la base de la cola)							
	Pérdida del reflejo corneal							
	Pérdida del reflejo pineal							
	Reacción de alarma disminuida							
	Reacción de alarma aumentada							
	Temblores del cuerpo							
	Convulsiones tónicas							
	Convulsiones clónicas							
Ojos	Fasciculaciones							
	Exoftalmia							
	Enoftalmia							
	Ptosis palpebral							
	Lacrimación escasa							
	Lacrimación moderada							
	Lacrimación abundante							
Sialorrea	Cromodacioreo							
	Salivación escasa							
	Salivación moderada							
	Salivación abundante							
	Priapismo							
	Signo de Robichaud							
	Agresividad							
	Pasividad							
	Temerosidad							
	Sangrado por nariz/boca							
	Muerte							

Anexo 3. Carta de revisión del profesor de español**Carta de revisión del profesor de Español**

Señores

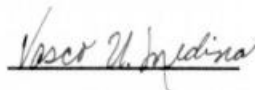
Universidad de Panamá

Ciudad

Yo, Vasco U. Medina, con cédula de identidad N° 8 - 399 - 349, asesor de redacción y ortografía de la Tesis, titulada: **"Evaluación de los Efectos Toxinológicos en Ratones de los Venenos de Escorpiones de los Géneros Tityus y Centruroides de Panamá: Manifestaciones Clínicas y Hallazgos de Laboratorio"**, la cual fue elaborada por la estudiante de la Facultad de Medicina: Maricruz Mariela Morán González, con C.I.P. 8- 883-1916.

Hago constar que este trabajo cumple satisfactoriamente con todos los requisitos formales de ortografía y de redacción exigidos por el idioma español.

Dado en Panamá, a los 12 días del mes de marzo de 2024.



Firma del Asesor

Nota: Se anexa copias de diploma y cédula.