

Artículo original

Efectos clínicos e histopatológicos agudos y subagudos del veneno de *Tityus breweri* en miocardio de hamsters.

Soto-Alfaro Tania V¹, Muñoz-Medina Carlos E¹, Rodríguez G Jonathan J¹, Parrilla-Álvarez Pedro E^{1*}^b.

¹ MD Complejo Hospitalario Universitario Ruiz y Páez, Ciudad Bolívar-Venezuela.

* Departamento de Ciencias Fisiológicas. Sección Farmacología. Universidad de Oriente, núcleo Bolívar, Venezuela.

^b Inmunólogo.

Correspondencia: Carlos Eduardo Muñoz Medina, Urbanización Gran Sabana, Ciudad Guayana, Estado Bolívar-Venezuela, Teléfono:+584249616671 krlosmz22421@gmail.com.

Fecha de recepción: Agosto 27 de 2019

Fecha de corrección Septiembre 15 de 2019

Fecha de aceptación Noviembre 3 de 2019

Fecha de publicación Diciembre 15 de 2019

Resumen

Los escorpiones del género *Tityus* presentan la mayor distribución mundial, de mayor importancia clínica, epidemiológica y más peligrosa del continente americano. Las toxinas de su veneno producen perturbación severa de los procesos de excitación y conducción del impulso nervioso. Desde el punto de vista histopatológicos se han observado cambios estructurales en diferentes tejidos de ratones, con el veneno de varias especies de *Tityus* venezolanos. **Objetivo:** Describir los efectos clínicos e histopatológicos agudos y subagudos del veneno de escorpión (Buthidae: *T. breweri*) en el miocardio de hámster. **Método:** Estudio experimental, exploratoria, descriptivo, analítica y correlacional. Se utilizaron hámsteres de ambos sexos del género *Cricetus* y se obtuvo el veneno de 26 escorpiones *T. breweri*, se escogieron 6 hámster al azar, inyectándoles vía intraperitoneal (VIP) veneno de *Tityus breweri*, 3 sacrificados a los 30 minutos y los otros 3 a los 60 minutos, 3 inyectados con agua destilada constituyeron el grupo control. **Resultados:** La mayoría de los animales expuestos presentaron manifestaciones de tipo colinérgicas y adrenérgicas. Las alteraciones histopatológicas agudas observadas fueron edema interfascicular y congestión vascular, infiltrado linfohistiocítico perivascular. Al transcurrir 12, 24, 48 y 72 horas de exposición del veneno, no se evidenciaron cambios histopatológicos, lo que hace presumir que se activaron los procesos de reparación de los tejidos dañados. **Conclusión:** el veneno de *T. breweri* produjo alteración histológicas agudas y subagudas en el tejido miocárdico en los hámsteres sin evidencia de alteración en el grupo control.

Palabras claves: *Tityus*, scorpion, agentes adrenérgicos.

Clinical and histopathological effects of acute and subacute of the poison of *Tityus breweri* in hamsters myocardia.

Scorpions of the genus *Tityus* present the largest distribution of the world, of greater clinical, epidemiological and more dangerous importance of the American continent. The toxins from its venom produce severe disturbance of the excitation and conduction processes of the nerve impulse. From the histopathological point of view structural changes have been observed in different tissues of mice, with the venom of several species of Venezuelan *Tityus*. **Objective:** To describe the acute and subacute clinical and histopathological effects of scorpion venom (*Buthidae*: *T. breweri*) on the hamster myocardium. **Method:** Experimental, exploratory, descriptive, analytical and correlational study. Hamsters of both sexes of the genus *Cricetus* were obtained and venom of 26 *T. breweri* scorpions were obtained, 6 random hamsters were chosen, injecting intravenously (VIP) venom of *Tityus breweri*, 3 sacrificed at 30 minutes and the other 3 at 60 minutes, 3 injected with distilled water constituted the control group. **Results:** Most of the exposed animals presented cholinergic and adrenergic type manifestations. The acute histopathological alterations observed were interfascicular edema and vascular congestion, perivascular lymphohistiocytic infiltrate. At the end of 12, 24, 48 and 72 hours of exposure of the venom, no histopathological changes were evidenced, which suggests that the repair processes of the damaged tissues were activated. **Conclusion:** *T. breweri* venom caused acute and subacute histological alterations in myocardial tissue in hamsters with no evidence of alteration in the control group.

Key words: *Tityus*, scorpion, adrenergic agents.

Introducción.

Los escorpiones son un grupo de artrópodos que tienen hábitos sigilosos y nocturnos, durante el día se ocultan bajo piedras, troncos y grietas o en galerías que cavan ellos mismos, la mayor parte del tiempo se encuentran en sus refugios de donde sólo salen para alimentarse y reproducirse. Por su condición de cavadores, muchas especies dependen de la granulometría y humedad del suelo (1–3).

El envenenamiento por escorpiones del género *Tityus* en América del sur es causa de emergencia pediátrica en diferentes áreas endémicas, las cuales coinciden con el sistema montañoso de los Andes, en Colombia (4) y de la floresta amazónica en Brasil(5).

Venezuela se ubica en el primer lugar de los países suramericanos en cuanto a la diversidad de escorpiones, seguido de Brasil. Hasta el presente se han registrado cinco familias de escorpiones (*Buthidae*, *Chactidae*, *Euscorpiidae*, *Hemiscorpiidae* y *Scorpionidae*), 17 géneros y 184 especies. Las dos primeras son las más diversas y reúnen el 51,6 % y 43,0 % de las especies del país, respectivamente. *Tityus*, el género más amplio de la familia *Buthidae* y de la escorpio fauna venezolana, constituyendo cerca del 30 % de las especies identificadas, de importancia clínica y epidemiológica (6,7).

En Venezuela se han descrito 7 regiones macroendémicas de escorpionismo: región Andina, Centro-Occidental, Centro-Norte Costera, región Nororiental, serranía de Preijá, región Delta y la región Guayano Amazónica, pero son escasas las publicaciones con accidentes en humanos (8). Aun cuando no se llevan registros detallados de la morbilidad se sabe que el escorpionismo es importante en varias regiones de Venezuela y en el estado Bolívar poco se conoce

sobre la epidemiología del escorpionismo; según los registros del Distrito Sanitario Nro 2 que señalan 3 muertes entre 1994 – 2004 (9).

El veneno escorpiónico es un líquido opalescente y turbio, lo cual se debe a las granulaciones, contiene 15-25 % de sólidos. La sustancia activa es soluble en agua, solución salina y glicerina, insoluble en alcohol etílico y metílico, éter, cloroformo y acetona, con pH de 6. El veneno es insípido e irritante para las mucosas y su administración vía oral carece de acción tóxica (10).

En su composición contienen proteínas de bajo peso molecular, esenciales en el efecto tóxico y causante de las alteraciones fisiológicas. Sus componentes más letales son las toxinas α y β ; cuyos blancos moleculares son los canales de Na^+ dependientes de voltaje de las membranas excitables (11).

El envenenamiento escorpiónico es un complejo sindromático principalmente asociado a disfunción en los sistemas cardiorespiratorios, nervioso e inflamatorio. Los síntomas suelen comenzar entre uno y sesenta minutos posteriores al evento. Las manifestaciones tóxicas dependen de la especie y el tamaño del animal, de la cantidad de veneno inyectado, del peso corporal del individuo y de su susceptibilidad siendo más grave en niños, en especial menores de 6 años, y ancianos; de tal manera que la severidad puede clasificarse en leve, moderada y severa (12).

Las manifestaciones clínicas pueden agruparse en aquellas de tipo colinérgicas y adrenérgicas, pudiendo presentarse aislada o una combinación de ambas. Las complicaciones más frecuentes son: alteraciones cardíacas, pancreatitis y edema agudo de pulmón. En pacientes graves, es posible observar agitación psicomotriz, fasciculaciones musculares, convulsiones, cambios electrocardiográficos, insuficiencia cardíaca, insuficiencia respiratoria o edema agudo de pulmón y shock así como coagulación intravascular diseminada y anemia hemolítica (4,13,14).

Las complicaciones cardiovasculares del escorpionismo a menudo son inducidas por venenos del género *Tityus* provenientes del occidente del país. Por ejemplo, el veneno del *Tityus falconensis*, induce miocarditis en todos los casos descritos, el daño aparece rápidamente (15). Se ha conseguido una correlación directa entre envenenamiento severo y el aumento de la creatinfosfoquinasa (CPKMB), isoenzima relacionada con síndromes coronarios agudos y se usa como marcador temprano de daño cardíaco (16).

Considerando las repercusiones histopatológicas deletéreas del veneno escorpiónico en las células cardíacas y los mecanismos por lo que se producen, resulta de suma importancia escudriñar dichos efectos, mediante el análisis de cortes histológicos que permitan establecer los efectos clínicos e histopatológicos agudos del veneno de escorpión (*Buthidae: T. breweri*) en miocardio de hamsters para contribuir con el abanico de información existente sobre *T. breweri*, de gran importancia epidemiológica en el estado Bolívar.

Material y Métodos.

Estudio experimental, exploratoria, descriptiva, analítica y correlacional.

Para la obtención del veneno de escorpiones, especímenes de *T. breweri* fueron capturados en su hábitat natural. Para ello, se seleccionaron zonas adyacentes al sector de la Tigra en la localidad de El Palmar, municipio Padre Pedro Chien, Estado Bolívar, Venezuela. Localizados

durante el día debajo de troncos secos en el suelo, piedras, hojarasca, debajo de corteza de árboles. Durante las noches, para facilitar la búsqueda, se utilizaron lámparas de luz morada (ultravioleta) aprovechando la propiedad de fluorescencia del exoesqueleto de los escorpiones a esta luz, posteriormente trasladados en cautiverio al laboratorio de Alacranología situado en la Escuela de Ciencias de la Salud “Dr. Francisco Battistini Casalta”, Ciudad Bolívar, Municipio Heres, Estado Bolívar y alimentados con larvas de *Tenebrio molitor* y aclimatados durante dos a tres semanas previas a su ordeño.

Ocurrida la aclimatación, los mayores de 1 g se ordeñaron para la obtención del veneno por el método de estimulación eléctrica de telson según la técnica desarrollada en el laboratorio de Alacranología de la Escuela de Ciencias de la Salud, Universidad de Oriente, Núcleo Bolívar. Se procedió a la inmovilización del escorpión. Luego se le colocaron 2 electrodos, el primero en la quela derecha, y el segundo en el telson, lugar donde se encuentra la glándula que se estimula para la liberación del veneno, estos electrodos estaban conectados a un estimulador Grass® modelo S-D5.

Se aplicaron de 3 a 5 trenes de pulsos con una potencia de 10 milivoltios, entre 10 y 20 segundos cada uno, dependiendo de la cantidad de veneno expulsado por cada escorpión. El veneno expulsado por el acúleo, fue recogido a través de tubos capilares de vidrio no heparinizados (75 µl de capacidad) y traspasados a tubos de Eppendorf, para luego almacenarlos y refrigerarlos a 4 °C hasta el momento de su procesamiento.

Posterior a la extracción se procedió a la purificación parcial del veneno y se separaron los diferentes componentes. Luego se procedió a la recuperación del sobrenadante, que contienen las proteínas con la actividad farmacológica, se cuantificó mediante espectrofotometría a una longitud de onda de 280nm asumiendo que la unidad de absorbancia corresponde a una concentración de 1mg/ml.

Se utilizaron hámsteres de ambos sexos, con pesos promedios de 30g del género *Cricetus*, alimentados con comida para perros y provistos de agua potable “*ad libitum*” sometidos a ayuno de una hora y se tomaron al azar para los experimentos descartando los animales con signos de enfermedad.

Ensayo experimental:

Tomando en cuenta que la Dosis letal 50 (DL₅₀) conocida para el escorpión *T. caripitensis* es de 20.2 µg/g determinado por el método de Dixon y Mood, con la finalidad de utilizar una dosis de veneno que no produjera la muerte de los hámsteres, se tomaron 5 animales al azar, se pesaron y se les administró una dosis de veneno variable a cada animal, desde 10 µg/g hasta 50 µg/g. se observó y registró la clínica aguda y subaguda mediante el uso de videocámaras, además de un instrumento creado para anotar los efectos producidos por el veneno. La dosis más alta que no mató al hámster fue usada para establecer los efectos agudos, mientras que la mitad de ésta para los subagudos.

Protocolo experimental:

Para evaluar los cambios histopatológicos agudos, se escogieron 6 hámsteres al azar, se inyectaron por vía intraperitoneal con veneno de *Tityus breweri* a las dosis determinadas en el ensayo anterior, con intervalo de 15 minutos de diferencia, identificados con la letra “H” seguido

de números arábigos ascendentes. Tres (H1-H3) fueron sacrificados 30 min posteriores a la inoculación del veneno y los otros tres (H4-H6) a los 60 minutos. Tres fueron usados como controles, a los cuales se les administró agua destilada.

Para los cambios histopatológicos subagudos, se escogieron 18 hámsteres al azar del grupo existente, se inyectaron por vía intraperitoneal con veneno de *Tityus breweri* con la mitad de la dosis a la que se les administró para los efectos agudos, con un intervalo de diferencia de 15 minutos, y sacrificado a las 3 (H7-H9), 6 (H10-H12), 12 (H13-H15), 24 (H16-H18), 48 (H19-H21) y 72 horas (H22-H24).

Posteriormente los animales fueron sacrificados mediante dislocación cervical y diseccionados, extrayéndoles el corazón y sumergiéndolos en formol al 10 %, se colocaron las piezas en un frasco con agua corriente por 15 minutos para eliminar el formol, se deshidrataron mediante colocación de alcohol en concentraciones de 100 % durante 6 horas cambiando cada 60 minutos el alcohol. Se fijaron, a través de la inmersión de la pieza en Xilol por 2 horas, cambiando cada 60 minutos.

Una vez fijada, deshidratada y adecuadamente identificada, las muestras se colocaron en parafina durante 2 horas, en estufa a 54-55 °C., repitiendo por dos horas más, las piezas se colocaron en un molde cuadrangular con una capa de parafina aún líquida, finalmente se vertió parafina líquida hasta llenar el recipiente, obteniendo un cubo solidificado.

Los ejemplares preparados fueron cortados con micrótopo, teñidos con Hematoxilina-Eosina (H-E), posteriormente observados y analizados a través de microscopía óptica por patólogo especialista.

Resultados:

Para la obtención del veneno, se usaron 26 escorpiones, ordeñados por el método de estimulación de telson y posteriormente cuantificados por espectrofotometría obteniéndose 1,287 ml. La dosis de experimentación para evaluar los efectos agudos resultó de 40 µg/g hámster, mientras que para establecer los efectos subagudos fueron la mitad.

Las manifestaciones agudas reflejadas, posterior a la exposición durante 30 minutos al veneno de *T. breweri*, fueron progresivas en el tiempo, presentando inicialmente hiperactividad, rascado en el área de la inoculación (sugiriendo prurito y/o dolor), dificultad para respirar, aumento de la actividad peristáltica evidenciada por defecaciones pastosas recurrentes, marcha torpe, espasmos musculares generalizados y debilidad muscular en tren posterior. A los 60 minutos se observan los mismos signos aunado a bradipnea, hipoactividad y micciones constantes.

La clínica subaguda a las 3 horas de exposición al veneno, estuvo representada en primera instancia por hiperactividad, que evoluciona a hipoactividad (desde los 20 minutos aproximadamente), espasmos musculares generalizados, debilidad en patas posteriores, defecaciones sólidas, erección de la cola, piloerección, imposibilidad para la marcha, taquipnea y distensión abdominal. Los signos de toxicidad a las 6 horas fueron los descritos aunado a cianosis, defecaciones sólidas constantes y aumento de frecuencia miccional. En los hámsteres con 12 horas de exposición al veneno, se añadió a la clínica mayor hipoactividad, disnea franca y se produjo la muerte de uno (H18) a las 8 horas y 39 minutos de la inoculación, aquellos con 24 y 48 horas presentaron cese de las manifestaciones clínicas y de los 3 animales de experimentación que fueron

Efectos clínicos del veneno de *Tityus breweri* en miocardio de hamsters

expuestos por 72 horas al veneno, murieron dos (H22 y H23), el resto sobrevivieron en buenas condiciones.

La inoculación de veneno de *T. breweri* provocó cambios histológicos agudos y subagudos en el miocardio de los hámsteres.

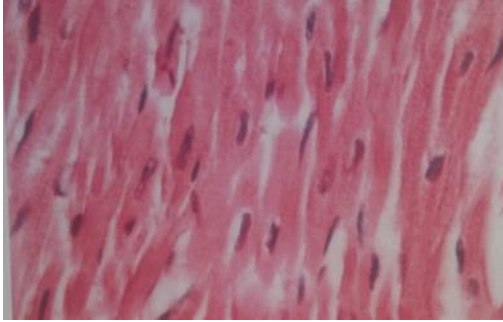


Figura 1: Microfotografía de tejido miocárdico de hámster inyectado intraperitonealmente con agua destilada, donde se evidencia: Fibras musculares normales con H-E, 400x

La figura 1, muestra imagen de tejido cardíaco normal de un hámster control, el cual se caracterizó por presentar fibras paralelas, de diámetro variable, con numerosos haces cruzados de fibras que se bifurcan y se conectan con fibras adyacentes para formar una red tridimensional. Entre ellos se encuentran un tejido conectivo fino que contiene vasos sanguíneos. Los núcleos celulares están ubicados dentro de la misma con apariencia central.

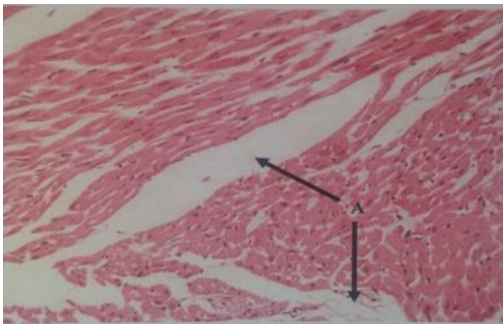


Figura 2: Microfotografía del tejido miocárdico de hámster inyectado intraperitonealmente con veneno de *T. breweri* 40 µg/g. 60 minutos de exposición donde se evidencia: (A) Edema interfascicular acentuado. H-E, 200x

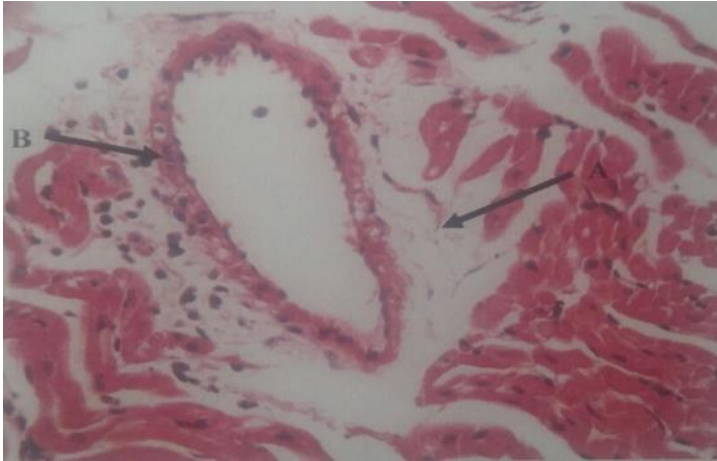


Figura 3: Microfotografía del tejido miocárdico de hámster inyectado intraperitonealmente con veneno de *T. breweri* 40 µg/g. 30 minutos de exposición donde se evidencia: (A) Edema interfascicular. (B) Infiltrado Linfohistiocítico perivascular. H-E, 400x.

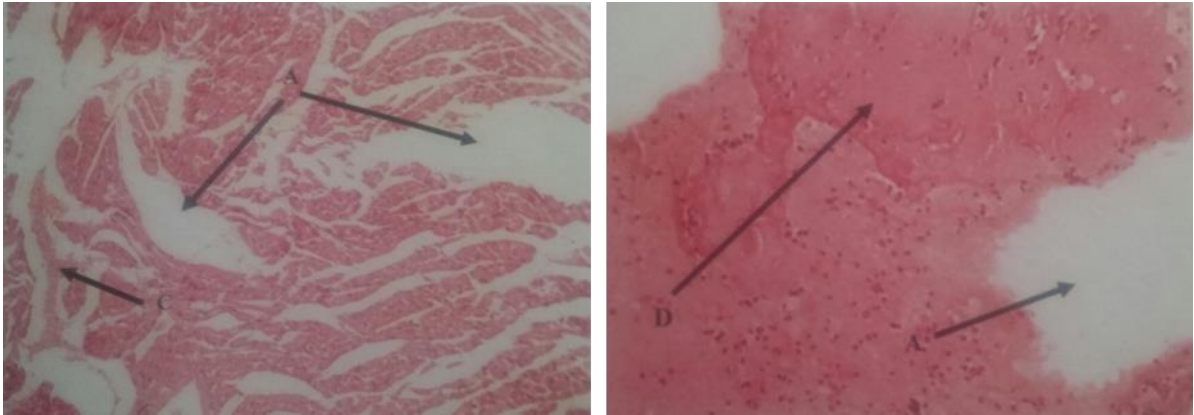


Figura 4: Microfotografías del tejido miocárdico de hámster inyectado intraperitonealmente con veneno de *T. breweri* 20 µg/g. 3 horas de exposición donde se evidencia: (A) Edema interfascicular acentuado. (C) Congestión vascular, (D) Coagulo fibrinohemático. H-E.100 - 200x.

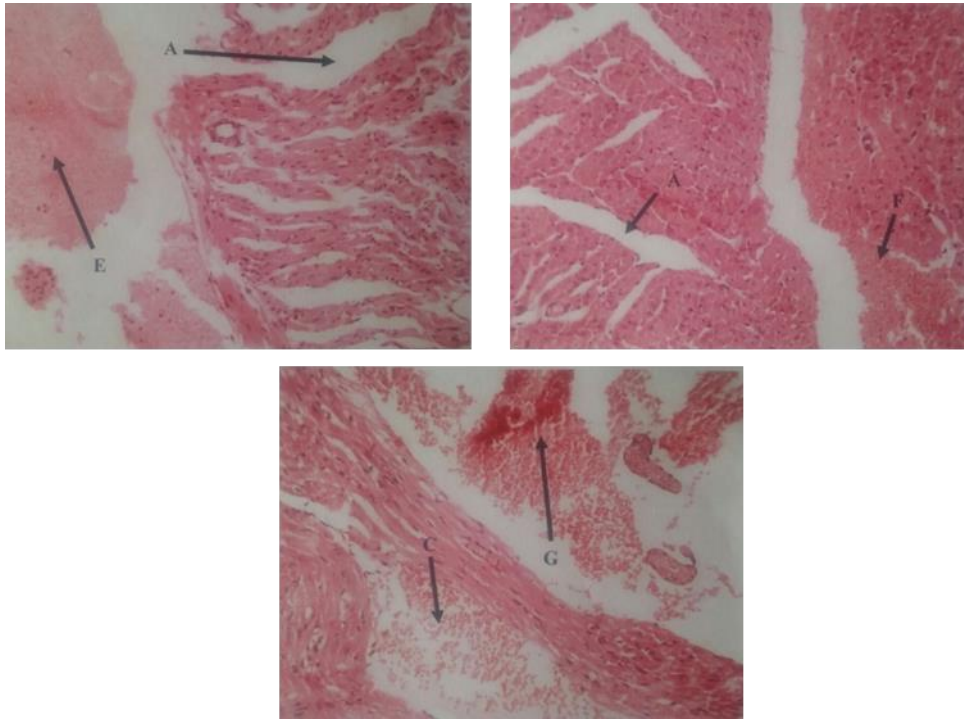


Figura 5: Microfotografías del tejido miocárdico de hámster inyectado intraperitonealmente con veneno de *T. breweri* 20 $\mu\text{g/g}$. 6 horas de exposición donde se evidencia: (A) Edema interfascicular acentuado. (E) Hemorragia reciente subendotelial. (F) Hemorragia reciente focal. (G) Hemorragia. H-E, 200x.

En los hámsteres a los que se les administró la dosis experimental para evaluar los cambios histopatológicos agudos (40 $\mu\text{g/g}$ hámster), se evidenciaron cambios progresivos, a los 30 minutos se observaron edema interfascicular y congestión vascular (Figura. 2), seguidamente, a los 60 minutos aparece infiltrado linfocítico perivascular (Figura. 3). En los que se les administró la mitad de la dosis de experimentación, para evaluar los cambios histopatológicos subagudos, se observaron variaciones sucesivas en el tejido miocárdico, evidenciando a las 3 horas, presencia de coagulo fibrinohemático en la superficie endocárdica (Figura. 4), posteriormente a las 6 horas se observó hemorragia focal y subendotelial (Figura. 5). Al transcurrir 12, 24, 48 y 72 horas de exposición al veneno, no se evidenciaron cambios histopatológicos relevantes.

Discusión.

La primera fase colinérgica generalmente es autolimitada y puede progresar hacia una pancreatitis necrohemorrágica fatal. (17) o estar seguida por una segunda fase adrenérgica, cuyas manifestaciones clínicas son: piloerección, palidez cutáneo-mucosa, hipertensión arterial, taquicardia sinusal, arritmias cardíacas, edema pulmonar y choque cardiogénico (15,18).

Resulta importante destacar que las manifestaciones clínicas adrenérgicas se observaron en menor proporción con respecto a las colinérgicas en el envenenamiento experimental, podría ser debido a que estos signos no pueden observarse en el modelo utilizado, ya que sería necesaria su cuantificación experimental. Por otra parte, el prurito observado y la piloerección, están asociadas con la activación de receptores α_1 adrenérgicos (19).

Se ha demostrado *in vitro* que el veneno de escorpión de diversas especies se distribuye a diferentes órganos y que tiene efectos tóxicos en corazón, estómago y páncreas, así mismo en pulmón, hígado, y riñones (20,21).

Una reciente investigación clínica encontró alteraciones de la perfusión miocárdica y espasmos microvasculares. La mejoría simultánea de estas dos alteraciones fue considerada por los autores como evidencia indirecta del papel patognomónico de la activación del sistema nervioso simpático en la génesis de la disfunción ventricular izquierda (22)

Martínez y Noriega (2010) determinaron los efectos histopatológicos agudos del veneno de escorpión *Tityus caripitensis* en el miocardio de ratones en presencia de atropina, administrando una dosis de 20 µg/g ratón, vía intraperitoneal. Un segundo grupo fue inyectado con atropina a dosis de 5 µg/g ratón, 10 minutos antes del veneno. Los animales fueron sacrificados a los 30, 60 y 90 min. En aquellos tratados sólo con veneno, se evidenciaron cambios histopatológicos progresivos a partir de los 30 minutos, congestión vascular y hemorragia leve, posteriormente a los 60 minutos, edema intersticial y edema de fibra muscular, que a partir de los 90 minutos, progresa a miocitólisis focal y multifocal, hemorragia y trombosis. Aquellos que se le administró atropina y veneno, mostraron alteración histopatológicas leves a partir de los 30 minutos. Histopatológicamente los cambios producto de isquemia en el miocardio se pueden evidenciar por microscopía óptica a partir de las 24 horas, por tanto los cambios detectados en los cortes histológicos son debidos en lugar de la hipoxia, a un efecto inflamatorio causado directamente por la venina en el tejido cardíaco (23).

Los hallazgos comparados con los causados por el veneno de *T. caripitensis* indicarían que el veneno *T. breweri* produce cambios histológicos similares, aunque menos acentuados, ya que en este estudio no se evidenció miocitólisis y los cambios histopatológicos fueron reversibles a partir de las 12 horas de exposición al veneno. Las alteraciones apreciadas en este estudio fueron menos notorias probablemente por el tiempo de exposición al veneno.

El efecto deletéreo sobre la fibra cardíaca, podría ser producto del efecto tóxico directo del veneno sobre el miocito, aunado a una respuesta inflamatoria y la consecuente liberación de citocinas, ya que, algunos autores han propuesto que el daño a tejidos, la pancreatitis, síndrome de dificultad respiratoria y falla multiorgánica, están asociados con una producción incontrolada de citocinas y otros productos de la activación de macrófagos y linfocitos.

El envenenamiento escorpionico en Venezuela es uno de los procesos no infecciosos que induce la liberación masiva de citocinas proinflamatorias, principalmente IL6, IL1- α , y pueden llevar una respuesta inflamatoria generalizada, en el cual se activa la cascada de coagulación, el sistema fibrinolítico y plaquetario; se liberan mediadores inflamatorios y proteasas, con incrementos de antitrombina III, antiplasmina, contribuyendo a expandir la inflamación a todos los órganos (24).

En todos los casos de escorpionismo ocurridos en nuestro país, donde se detectaron alteraciones en el TP y TTP, han estado involucradas especies del género *Tityus*. Aún se desconocen los componentes responsables de este efecto y la manera de actuar de los mismos (25).

En todos los casos, las manifestaciones sistémicas que predominaron en el cuadro neurotóxico agudo producto de la inyección intraperitoneal del veneno de *T. breweri*, fueron de

naturaleza colinérgica (producto de la exacerbación de las funciones del sistema nervioso parasimpático), con algunas manifestaciones centrales y adrenérgicas.

El veneno de *T. breweri*, produjo alteraciones histológicas agudas y subagudas en el tejido cardíaco de los ratones de experimentación y en los Hámsteres utilizados como control no se evidenció ninguna alteración histopatológica, dejando como recomendación continuar investigando y profundizando el tema desarrollado en esta investigación, así como los efectos clínicos e histopatológicos crónicos causados por el veneno del escorpión *Tityus breweri* en el corazón.

Conflictos de interés: Los autores declaramos no tener conflictos de intereses.

Referencias

1. Polis GA. *The Biology of Scorpions*. Stanford University Press; 1990. 622 p.
2. Augusto P, Mattoni CI, Pizarro-Araya J, Cepeda-Pizarro J, López-Cortés F. Comunidades de escorpiones (Arachnida: Scorpiones) del desierto costero transicional de Chile. *Rev Chil Hist Nat*. 2006;79(4):407-21.
3. Lorenzo Prendini. Substratum specialization and speciation in southern African scorpions: The Effect Hypothesis revisited (PDF Download Available) [Internet]. ResearchGate. 2001 [citado 13 de junio de 2017]. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/281113134_Substratum_specialization_and_speciation_in_southern_African_scorpions_The_Effect_Hypothesis_revisited
4. Otero R, Navío E, Céspedes FA, Núñez MJ, Lozano L, Moscoso ER, et al. Scorpion envenoming in two regions of Colombia: clinical, epidemiological and therapeutic aspects. *Trans R Soc Trop Med Hyg*. diciembre de 2004;98(12):742-50.
5. Ferreira MG, Duarte CG, Oliveira MS, Castro KLP, Teixeira MS, Reis LPG, et al. Toxicity of crude and detoxified *Tityus serrulatus* venom in anti-venom-producing sheep. *J Vet Sci*. diciembre de 2016;17(4):467-77.
6. González Sponga. JSP Page [Internet]. 1996 [citado 13 de junio de 2017]. Disponible en: <http://www.urbe.edu/UDWLibrary/InfoBook.do?id=5254>
7. D'Suze G, Moncada S, Gonzalez C, Sevcik C, Aguilar V, Alagon A. Los pacientes de escorpionismo con sintomatología local tiene niveles importantes de veneno en plasma. *Arch Venez Pueric Pediatría*. 2001;64(3):139-47.
8. De Sousa L, Parrilla-Alvarez P, Quiroga M. An epidemiological review of scorpion stings in Venezuela: the Northeastern region. *J Venom Anim Toxins*. 2000;6(2):128-66.
9. Cermeño JR, Cermeño JJ, Gómez H, Almirail CA. Envenenamiento escorpiónico en El Palmar, estado Bolívar-Venezuela. *Kasmera*. 2011;39(1):43-8.
10. Nieto JMM. *Alacranes venenosos de México*. 1961. 44 p.

11. Barona J, Batista CVF, Zamudio FZ, Gomez-Lagunas F, Wanke E, Otero R, et al. Proteomic analysis of the venom and characterization of toxins specific for Na⁺- and K⁺-channels from the Colombian scorpion *Tityus pachyurus*. *Biochim Biophys Acta BBA - Proteins Proteomics*. 1 de enero de 2006;1764(1):76-84.
12. Tesis.CAMBIOS HISTOPATOLÒGICOS AGUDOS.pdf [Internet]. [citado 15 de junio de 2017]. Disponible en: <http://ri.bib.udo.edu.ve/bitstream/123456789/1124/1/Tesis.CAMBIOS%20HISTOPATOL%C3%92GICOS%20AGUDOS.pdf>
13. Adolfo Boges, Leonardo De Sousa. Escorpionismo en Venezuela: Una aproximación molecular, inmunológica y epidemiológica para su estudio (PDF Download Available) [Internet]. ResearchGate. 2006 [citado 15 de junio de 2017]. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/235991840_Escorpionismo_en_Venezuela_Una_aproximacion_molecular_inmunologica_y_epidemiologica_para_su_estudio
14. C G, Pablo J, Otero P R. Eco-epidemiology of scorpions of medical importance in Colombia. *Rev Fac Nac Salud Pública*. enero de 2007;25(1):50-60.
15. Mazzei de Dávila CA, Dávila DF, Donis JH, de Bellabarba GA, Villarreal V, Barboza JS. Sympathetic nervous system activation, antivenin administration and cardiovascular manifestations of scorpion envenomation. *Toxicon Off J Int Soc Toxinology*. septiembre de 2002;40(9):1339-46.
16. Guinand A, Cortés H, D'Suze G, Díaz P, Sevcik C, González Sponga M, et al. Escorpionismo del género *tityus* en la sierra falconiana y su correlación con la liberación de mediadores inflamatorios y enzimas cardíacas. *Gac Méd Caracas*. junio de 2004;112(2):131-8.
17. Rossomando A, Rosillo M, Chacón de Gutiérrez E, Barra V, Moreno E, Albán AE. Pancreatitis aguda por emponzoñamiento escorpiónico: estudio prospectivo. *G E N*. diciembre de 1997;51(4):258-62.
18. Zeghal K, Sahnoun Z, Guinot M, Richer C, Giudicelli JF. Characterization and mechanisms of the cardiovascular and haemodynamic alterations induced by scorpion venom in rats. *Fundam Clin Pharmacol*. agosto de 2000;14(4):351-61.
19. Bonita Blake. *A Textbook of Modern Toxicology* [Internet]. Jhon Wiley & Sons, Inc. 279-297 p. Disponible en: http://archive.org/details/A_Textbook_of_Modern_Toxicology
20. De Sousa L, Vásquez D, Salazar D, Valecillos R, Vásquez D, Rojas M, et al. Mortalidad en humanos por envenenamientos causados por invertebrados y vertebrados en el Estado Monagas, Venezuela. *Investig Clínica*. septiembre de 2005;46(3):229-40.
21. Revelo MP, Bambirra EA, Ferreira AP, Diniz CR, Chávez-Olórtegui C. Body distribution of *Tityus serrulatus* scorpion venom in mice and effects of scorpion antivenom. *Toxicon Off J Int Soc Toxinology*. octubre de 1996;34(10):1119-25.

22. Cupo P, Figueiredo AB, Filho AP, Pintya AO, Tavares GA, Caligaris F, et al. Acute left ventricular dysfunction of severe scorpion envenomation is related to myocardial perfusion disturbance. *Int J Cardiol.* 2 de marzo de 2007;116(1):98-106.
23. Noriega, F. M. A. EFECTOS HISTOPATOLÓGICOS AGUDOS DEL VENENO DE ESCORPIÓN (BUTHIDAE: *T. caripitensis*) EN MIOCARDIO DE RATÓN EN PRESENCIA DE ATROPINA. [Internet]. [citado 9 de julio de 2017]. Disponible en: <http://ri.bib.udo.edu.ve/bitstream/123456789/2851/1/02-Tesis.%20Efectos%20Histopatologicos%20Agudos.pdf>
24. García de Lorenzo, López Martínez J, Sánchez Castilla M. Respuesta inflamatoria sistémica: definiciones, marcadores inflamatorios y posibilidades terapéuticas - ScienceDirect [Internet]. [citado 9 de julio de 2017]. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0210569100796239>
25. Brazón J, Guerrero B, Arocha-Piñango CL, Sevcik C, D'Suze G. Efecto del veneno del escorpión *Tityus discrepans* sobre las pruebas globales de la coagulación: Estudios preliminares. *Investig Clínica.* marzo de 2008;49(1):49-58.