

Efecto hemolítico, hemaglutinante y de coagulación del veneno de *Scolopendra gigantea*.

Hemolytic, hemagglutinating and coagulation effect of the venom *Scolopendra gigantea*.

Eucandis Fuentes¹  Claudio Granado¹  Carlos Moreno¹  Rafael Fernández¹  Mario Palacios² 

RESUMEN

El envenenamiento por escolopendra es una amenaza creciente en latinoamérica y el mundo. En Venezuela, *Scolopendra gigantea*, la especie de mayor tamaño conocida, que ha sido la responsable de al menos 85 muertes humanas. Actualmente, son escasos los reportes de la naturaleza del veneno tanto de esta especie, como de otros centípedos, por lo cual se evaluó el efecto hemolítico, hemaglutinante y de coagulación del veneno de *Scolopendra gigantea* como pasos iniciales hacia su caracterización completa. Para esto, se utilizó una muestra de sangre humana tipo ORh+ y se evaluaron las actividades del veneno a distintas proporciones (2, 4, 6 y 8 µL), previa determinación de proteínas totales, mediante su incubación en conjunto. La actividad hemolítica directa (AHD) fue determinada midiendo concentraciones de hemoglobina por espectrofotometría (30 min y 2 h de incubación) y el efecto hemaglutinante mediante una prueba visual, ambas usando la fracción eritrocitaria. El efecto coagulante se evaluó mediante el tiempo de trombina, el tiempo de protrombina y el tiempo de tromboplastina parcial activada, usando la fracción plasmática. Se observó una marcada AHD con un comportamiento dosis-dependiente, en el que el 100 % de hemólisis se alcanzó a una concentración de 0,0827 µg/µL de proteína (2,44 mg/mL totales), a los 30 min de incubación. Sin embargo, no se detectó efecto hemaglutinante ni de alteración de la coagulación. Los resultados, pioneros en esta área, sugieren que el principal mecanismo de acción del veneno de *S. gigantea* es la hemólisis directa.

Palabras clave: Ciempiés gigante, veneno de artrópodo, ponzoñoso, Chilopoda.

ABSTRACT

Scolopendra poisoning is a growing threat in Latin America and the world. In Venezuela, *Scolopendra gigantea*, the largest known species, has been responsible for at least 85 human mortal cases. Currently, there are few reports of the nature of the venom of this species, as well as of other centipedes' venoms, which is why in the present study we sought to evaluate the hemolytic, hemagglutinating and coagulation effect of the venom of *S. gigantea*, as initial steps toward its full characterization. For this, a sample of type ORh++ human blood was used and the activities of the venom were evaluated at different proportions (2, 4, 6 and 8 µL), after determining total proteins, by incubating them together. The direct hemolytic activity (AHD) was determined by measuring haemoglobin concentrations by spectrophotometry (30 min and 2 h of incubation) and the hemagglutinating effect by a visual test, both using the erythrocyte fraction. The coagulation effect was evaluated by means of thrombin time, prothrombin time and activated partial thromboplastin time, using the plasma fraction. A marked AHD with a dose-dependent behavior was observed, in which 100 % hemolysis was reached at a concentration of 0.0827 µg/µL of protein (2.44 mg/mL total), at 30 min of incubation. However, no hemagglutinating effect or coagulation alteration was detected. The results, pioneers in this area, suggest that the main mechanism of action of *S. gigantea* venom is direct hemolysis.

Key words: Giant centipede, arthropod venom, poisonous, Chilopoda.

INTRODUCCIÓN

Scolopendra gigantea es una especie de artrópodo de la Clase Chilopoda, orden Scolopendromorpha y familia Scolopendridae. En esta clasificación se incluyen varias especies de ciempiés gigantes, los cuales se encuentran ampliamente distribuidos en regiones tropicales y subtropicales de todo el mundo (1-3).

En Venezuela el representante más estudiado de este orden es *Scolopendra gigantea*, por ser la especie conocida de mayor tamaño, con una longitud máxima reportada de 30 cm (4). Debido a su comportamiento agresivo característico, el envenenamiento por parte de *S. gigantea* es común en las zonas que habita en conjunto con comunidades urbanas y rurales (3, 4). Actualmente, se sabe que su veneno es un líquido homogéneo, transparente y de pH ácido, cuya composición química varía entre individuos de la misma especie, pero en todos los casos presenta predominancia de una elevada proporción de proteínas (5).

¹Centro de Biotecnología Aplicada (CBA), FACyT-UC;

²Laboratorio de Biología Marino Costera (BioMaC), FACyT-UC.

Autor de correspondencia: Eucandis Fuentes 

E-mail: efuentes2@uc.edu.ve

Recibido: 16-06-2020

Aprobado: 18-11-2020

El envenenamiento por cualquiera de las especies del género *Scolopendra*, produce síntomas leves en pacientes adultos, como dolor local (de intensidad leve a grave que puede irradiarse a otras partes del cuerpo de la víctima), edema, eritema, parestesia, mareos, dolor de cabeza, fiebre, erupción cutánea general, celulitis eosinofílica, anafilaxia y necrosis en el sitio de la picadura (1,3,6,7,8,9).

Sin embargo, varias especies de ese género son capaces de producir síntomas graves en los seres humanos, incluyendo isquemia e infarto de miocardio, hemoglobinuria, hematuria, hemorragia y rhabdomiólisis (10). En Venezuela el contacto traumático con *S. gigantea*, denominado escolopendrismo, representa un accidente agudo y muy doloroso, que puede durar varias horas, representando ya un problema epidémico dado el número incidentes anuales en amplias zonas del país (11).

La mayor parte de los casos mortales reportados a causa de envenenamiento por escolopendra en Venezuela se han producido en sujetos con edades comprendidas entre 15 y 34 años (12,13), principalmente, en los Estados Miranda y Falcón (14-16). Desde el primer reporte en 1999, en el que se vio afectado un neonato de 28 días de nacido (6), los casos han ido aumentando cronológicamente debido a la progresiva ocupación humana de lugares cercanos o inmersos en los nichos ecológicos de *Scolopendra gigantea*.

Para el año 2000 fueron reportados un total de 5 casos en la población de Capaya (Estado Miranda) (14), 12 casos en todo el país entre 2002 y 2003 (14, 15), 17 casos en la población de Río Seco (Estado Miranda) para 2004 (16), 39 casos entre 2008 y 2009 en todo el país (13, 14), y 8 casos en el 2012 en la población de Adícora (Península de Paraguaná, Estado Falcón) (17).

Si bien no se ha reportado más casos oficiales hasta la fecha, el auge de los casos leves y mortales de envenenamiento por escolopendra es preocupante en materia de salud pública, dado que en Venezuela y en América Latina son pocos los estudios clínicos, ecoepidemiológicos y toxicológicos, relacionados con los accidentes ocasionados por los centípedos (14, 17),

También son escasos los estudios acerca de su biología y taxonomía (18, 19), por lo cual es urgente el abocamiento de los mismos (20). Al no existir información disponible, los tratamientos para el envenenamiento por escolopendra se determinan en función de las manifestaciones clínicas a medida que aparece la sintomatología y no en función de aliviar o eliminar el efecto del veneno de manera efectiva.

Como no existe en la actualidad un antisuero, la realización de ensayos clínicos que permitan predecir el efecto y la

prevalencia del veneno de las especies de escolopendras nativas, una vez en el organismo afectado, permitirá prevenir o controlar las manifestaciones clínicas mediante protocolos de atención inmediata y tardía, como los establecidos para los casos de envenenamiento por otros animales ponzoñosos (serpientes y escorpiones).

Dependiendo de la naturaleza del veneno se recomienda o no, tomar acciones como la inmovilización del paciente o zona afectada, la utilización de férulas o vendajes, la aplicación de presión y la administración de medicamentos analgésicos, antiinflamatorios y anticoagulantes (21).

El veneno de animales ponzoñosos como las serpientes se clasifica en tres tipos: a) mionecróticos, que se caracteriza por ser hemorrágico y anticoagulantes, b) neurotóxicos y hemolíticos y c) neurotóxicos (22). En centípedos se ha caracterizado más de 500 proteínas, en su mayoría neurotóxicas, pero no se descarta que tengan proteínas con otro mecanismo de acción (23), ya sea hemolítica o anticoagulante.

En estudios previos con escorpiones ponzoñosos se ha evaluado inicialmente la presencia de tres efectos en sangre: hemolítico, hemaglutinante y de coagulación (24-26). De tal manera, que al tener un diagnóstico particular, ya sea por cambios del nivel de ciertas enzimas clave o de ciertos parámetros sanguíneos, se puede aplicar el tratamiento adecuado de la sintomatología y daños, aún en presencia de antisueros mono o polivalentes (27), tal como se reportó en escorpiones (21).

Dada la poca información disponible al respecto y con el fin de generar conocimientos para el tratamiento de los casos de envenenamiento por escolopendra, el objetivo de este estudio fue evaluar el efecto hemolítico, hemaglutinante y de coagulación del veneno de *S. gigantea* en muestras de sangre humana tipo 0Rh +.

MATERIALES Y MÉTODOS

Tipo de estudio. La investigación se realizó bajo un diseño experimental, de corte transversal y tipo correlacional.

Ejemplares de *S. gigantea*. Los ejemplares adultos fueron colectados en zonas húmedas, bajo la corteza de árboles, de escombros y de hojarasca, o en agujeros de un área xerófila adyacente al Parque Zoológico de Paraguaná Gustavo Rivera, en el sector Cardón - Punta Cardón, del Municipio Carirubana, en el Estado Falcón (11°39'05,39"N, 70°13'18,19"O) y fueron identificados taxonómicamente (28). Una vez identificados, fueron mantenidos en cautiverio en el laboratorio de Bioquímica adscrito al Centro de Biotecnología Aplicada (CBA) del Departamento de Biología

(FACyT-UC), siguiendo los lineamientos bioéticos para artrópodos (29) establecidos en el CBA de Facyt-UC.

Extracción del veneno. El veneno de 18 ejemplares adultos de *S. gigantea* se colectó cada 15 días durante seis meses, siguiendo la metodología descrita previamente para ciempiés en Brasil (1), con modificaciones. Para esto, se indujo estrés físico (golpes en las paredes de los contenedores plásticos de cría) a los ciempiés, estimulando la producción de veneno en los conductos forcípules. Estos fueron luego sometidos a tratamiento de frío introducidos en recipientes de vidrio contenidos en una cava con hielo por un periodo entre 5 y 10 minutos, dependiendo del peso del animal. Una vez dormido el ejemplar, se le aplicó electroestimulación en la base de las forcípules (previamente humedecidas con agua), utilizando un estimulador eléctrico (Philips & Bird modelo 7092-611), con voltaje de 80 mV durante 10 a 15 segundos, repitiendo dos o tres veces según fuese necesario. El veneno fue colectado empleando una micropipeta de 20-200 μ L, con una punta truncada (para que el extremo de la forcípula pudiera ser introducida dentro de la misma) y se almacenó en tubos de criopreservación a -20 °C. Para todos los ensayos se utilizó una dilución de veneno 1:100 en una solución amortiguadora de fosfato salino (PBS) pH 7,4.

Determinación de proteínas totales. Se utilizó el método descrito por Bradford (30), mezclando 998 μ L de reactivo de Bradford con 2 μ L de la dilución del veneno, midiendo luego la absorbancia de la mezcla en un espectrofotómetro (GENESYS 10 UV de THERMO) a una longitud de onda de 595 nm. Se usó una curva de calibración de Suero de Albúmina Bovino (BSA) marca SIGMA, en un rango de 0,05-2,00 mg/mL.

Muestra de sangre humana. La suspensión de eritrocitos y el plasma se prepararon a partir de una muestra de sangre anticoagulada (EDTA 1 mg/mL) ORh+, extraída de un individuo aparentemente sano, de sexo masculino, que no estuvo bajo tratamiento médico farmacológico durante los 15 días previos a la toma de la muestra, y que dio su consentimiento informado antes de participar en el estudio. Un especialista realizó la venocleisis y extracción de la sangre bajo el protocolo estandarizado por la Organización Mundial de la Salud (31). La sangre obtenida fue tipificada aplicando las pruebas celulares (con anticuerpos monoclonales purificados) y sérica, según el protocolo estándar (32).

Actividad Hemolítica Directa (AHD). Se usó una modificación del protocolo descrito para veneno de ciempiés de Brasil (1), empleando 20 μ L de una suspensión de eritrocitos al 5% (sangre con anticoagulante de 1:250), en PBS, a los que se le agregó el extracto del veneno (2, 4, 6 y 8 μ L), y se completaron con PBS pH 7,4 para un volumen total de 250 μ L. Para el control positivo, la suspensión de

eritrocitos se mezcló con agua destilada (100% hemólisis), mientras que para el control negativo se mezcló con PBS pH 7,4 (0% hemólisis). Todos los tratamientos se incubaron por 30 minutos a temperatura ambiente y cada muestra fue evaluada por triplicado al inicio y a las 2 horas después de la incubación, tiempos en los que se esperaba se hubiese alcanzado la actividad hemolítica máxima de cada veneno según lo reportado anteriormente para otras especies de centípedos (1). Una vez culminado el tiempo correspondiente, se centrifugaron las muestras a 2500 rpm por 5 minutos, y se midió absorbancia a 595 nm en un lector de ELISA (Thermo Scientific 1510) en placas de poliestireno de 96 pozos. Con los valores obtenidos, se calculó la concentración de hemoglobina de cada muestra y sus réplicas.

Efecto Hemaglutinante. Para este ensayo se mezcló el veneno (2, 4, 6 y 8 μ L) con 20 μ L de la suspensión de eritrocitos al 5% en PBS para un volumen final de 250 μ L, de acuerdo al protocolo estándar (32). Se agitó suavemente la mezcla y se incubó por 5 minutos a temperatura ambiente. Culminando ese tiempo se centrifugó a 1000 rpm durante 1 minuto, y se verificó mediante microscopio de luz, si se produjo aglutinación de los eritrocitos. Cada muestra se evaluó por triplicado.

Actividad coagulante: Se empleó una modificación del protocolo descrito para veneno de *Bothrops jararaca* (33), en la que se mezclaron diferentes volúmenes de la dilución del veneno (0,5; 1,0; 1,5; y 2,0 μ L) con 50 μ L de plasma y se completó con PBS, pH 7,4 hasta un volumen total de 100 μ L. Luego se incubaron las muestras a 37°C durante 5 minutos para determinar el tiempo de coagulación, evaluando cada muestra por sextuplicado.

Tiempos de Trombina (TT) y de Protrombina (TP): Una vez culminado el tiempo de incubación de las muestras del ensayo anterior, a tres de ellas se les añadieron 50 μ L de trombina SIGMA 30 U/mL para verificar la hidrólisis de fibrinógeno y determinar el TT, y a las tres restantes se les añadieron 50 μ L de Tromboplastina C Dade Behring para determinar el TP.

Tiempo de Tromboplastina Parcial activada (TTPa): Se empleó una modificación del protocolo estándar de Gaudens (34), en la que se mezclaron diferentes volúmenes de la dilución del veneno (0,5; 1,0; 1,5; y 2,0 μ L) con 40 μ L de cefalina con activador (Actin Dade Behring) y se completó con PBS pH 7,4 hasta un volumen total de 50 μ L. Se añadieron 50 μ L de plasma y las muestras se incubaron a 37 °C durante 3 minutos. Luego se agregaron 50 μ L de cloruro de calcio 0,025 mol/L y se mantuvo en incubación durante 20 segundos; al cabo de ese tiempo se retiraron las muestras de la incubación para determinar el TTPa, cuyos

intervalos de referencia son para el control 30-50 segundos y para la diferencia ± 10 s.

Análisis estadístico. La determinación de la concentración de proteínas totales presentes en el veneno, se calculó construyendo una curva de calibración mediante una regresión lineal de Pearson, utilizando los valores de absorbancia de los estándares y las muestras. Se reportan las distintas concentraciones totales de proteínas ($\mu\text{g}/\mu\text{L}$) en las diferentes muestras.

Para la actividad hemolítica directa, se reporta el porcentaje de hemólisis (mediana, valor mínimo y máximo) calculado a partir de la absorbancia de las muestras respecto a la absorbancia del control positivo (para descartar el efecto relacionado a la concentración real efectiva de eritrocitos en suspensión). Se confirmó la normalidad de los datos mediante la prueba de Shapiro Wilk, y la homogeneidad de varianza mediante contraste de Leven. Las diferencias entre las concentraciones de hemoglobina, según la cantidad de veneno y el tiempo, se evaluaron mediante una prueba de análisis de varianza (ANOVA) para dos factores, y los resultados obtenidos fueron empleados para realizar comparaciones múltiples con la prueba de Turkey.

En la determinación de la actividad coagulante se compararon las medianas de los tiempos de coagulación mediante la prueba de Kruskal-Wallis, para k-medias independientes, debido a que los datos no presentaron una distribución normal, ni homogeneidad de varianza. El análisis de los datos se realizó con el software PAST versión 3.13, y en todas las pruebas los valores de probabilidad (p) menores a 0,05 fueron considerados significativos.

RESULTADOS

La concentración de proteínas totales presentes (obtenida con la curva de calibración) en la dilución del veneno fue de $243,56 \mu\text{g}/\mu\text{L}$. Por lo tanto, considerando que la dilución del veneno fue de 1:100, la concentración de proteínas del veneno es de $2,44 \text{ mg}/\mu\text{L}$. El ajuste lineal de la curva de calibración obtenida resultó altamente significativo ($p = 2,5 \cdot 10^{-8}$). El modelo rectilíneo explica casi el 99% de la varianza total del sistema, con un coeficiente de determinación (R^2) de 0,9884, por lo que fue utilizada para la cuantificación.

Con los datos obtenidos en la determinación de proteínas totales se calculó la concentración proteica final del veneno en las muestras, obteniéndose los resultados que se presentan en la Tabla 1. El análisis de los resultados utilizando la prueba ANOVA indicó que hay diferencias significativas para el volumen de veneno ($p = 0,005$) y para el tiempo ($p = 0,000$), pero no para la interacción entre ambas

variables ($p = 0,644$). La prueba de Tukey muestra que sólo existen diferencias significativas entre los volúmenes de veneno 2 y 8 ($p = 0,004$), y entre 4 y 8 ($p = 0,038$).

Tabla 1. Concentración proteica final del veneno de *Scolopendra gigantea* en las muestras de AHD, según el volumen de veneno añadido.

Volumen de veneno (μL)	Concentración final ($\mu\text{g}/\mu\text{L}$)
2	0,0207
4	0,0414
6	0,0621
8	0,0827

En cuanto al ensayo de hemólisis directa, el diagrama de cajas que se presenta en la Figura 1, muestra un comportamiento dosis-dependiente en respecto al volumen del veneno y el tiempo, además de una elevada actividad hemolítica del veneno ($89,57\% \pm 2,09$), incluso al menor volumen de dilución del veneno empleada a tiempo 0.

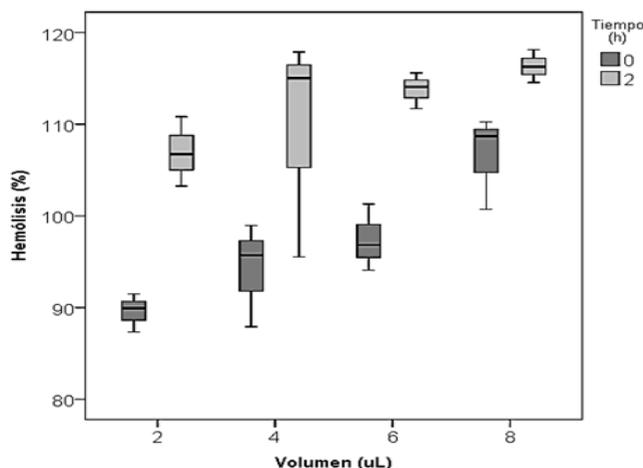


Fig. 1. Diagrama de cajas (mediana, valor mínimo y valor máximo) del porcentaje de hemólisis producido por cada volumen de dilución del veneno de *Scolopendra gigantea*, a 0 y 2 horas luego de la incubación.

En el ensayo cualitativo para la evaluación de la actividad hemaglutinante, no se observó actividad de este tipo de respuesta al veneno (datos no mostrados), produciendo únicamente hemólisis. Del mismo modo, no se observó la formación de coágulos de fibrina en el plasma, incluso luego de 15 min de haber sido añadido.

En cuanto a TT, TP y TTPa, los promedios de los tiempos de coagulación obtenidos (Tabla 2) se ubican dentro de los valores de referencia (entre 11-17 segundos para TT y TP, y entre 30-50 segundos para TTPa), pero no presentaron diferencias significativas respecto al control positivo respectivo ($p = 0,3371$).

Tabla 2. Efecto del veneno de *Scolopendra gigantea* sobre los tiempos de coagulación del plasma humano.

Veneno (μL)	Concentración final de proteínas del veneno (μg/μL)	TT (segundos)	TP (segundos)	TTPa (segundos)
0,50	0,812	+(11,5)	+(12,5)	+(37,5)
1,00	1,624	+(13,0)	+(12,5)	+(43,5)
1,50	2,436	+(14,5)	+(13,0)	+(38,0)
2,00	3,247	+(11,0)	+(13,5)	+(39,0)
Control (+)	-	+(11,0)	+(12,5)	+(37,0)
Control (-)	-	-(0,0)	-(0,0)	-(0,0)

+: Formación de coágulo; -: sin formación de coágulo

DISCUSIÓN

Las diferencias obtenidas respecto a la actividad hemolítica directa, tanto para el volumen de dilución del veneno, como para el tiempo y el efecto dosis-dependiente, se corresponden con lo esperado y reportado para las 3 especies de ciempiés venenosos en Brasil, que fueron estudiadas anteriormente (*Scolopendra viridicornis*, *Otostigmus pradoi* y *Cryptops ihering*) (1).

El efecto dosis-dependiente observado es la razón por la que la interacción entre el tiempo y volumen de dilución del veneno no tuvieron significación estadística, debido a que se trata de un proceso de hemólisis creciente, que no es posible revertir, por la pérdida de la integridad de la membrana de los eritrocitos. También en dicho estudio se reportó que solo el veneno de *O. pradoi* alcanzó el 100% de hemólisis a una concentración de 0,3 μg/μl luego de 2 horas de incubación, mientras que en el presente estudio el veneno de *S. gigantea* lo alcanzó a 0,0827 μg/μL, luego de tan solo 30 minutos de incubación.

Para estudios posteriores se recomienda la introducción de variaciones en el tiempo de incubación y medición, y en las diluciones del extracto, para una mejor caracterización del efecto hemolítico. La concentración promedio de proteínas del veneno fue de 2,44 mg/μL.

Si bien no se sabe con exactitud que fracción y proporción de proteínas, es la responsable del efecto hemolítico directo observado y los resultados aquí presentados sugieren que la letalidad del veneno de *S. gigantea* en sus presas naturales de pequeña talla, pudiese deberse en parte al efecto hemolítico.

La alta concentración de proteínas encontradas y la baja concentración necesaria para alcanzar la máxima hemólisis, sugiere que en los casos fatales de envenenamiento por escolopendra, el efecto hemolítico pudiese jugar un papel

importante en la sintomatología, en especial si los afectados son pacientes de talla menor, como el caso de neonatos (6).

Una elevada actividad hemolítica directa pudiese desencadenar la aparición de anemia hemolítica aguda, como ha sido reportado anteriormente en casos de envenenamiento por arañas (35) e insectos ponzoñosos (36).

Sin embargo, los resultados del presente estudio en cuanto a la actividad hemolítica se limitan a las concentraciones reportadas de proteínas en el veneno, y no son directamente representativos del envenenamiento in situ, en especial dado el que la concentración de estas en el extracto es aproximadamente 6.5 veces mayor a lo reportado por primera vez en Venezuela, hace más de una década, para la misma especie de ciempiés (0,375 mg/μL) (37). Esta diferencia es bastante elevada, considerando que los ejemplares fueron colectados en la misma localidad (Estado Falcón), y pudiese deberse a que al estar en cautiverio y al ser alimentados y mantenidos de forma individual, estos se encontraban en óptimas condiciones fisiológicas y no requirieron utilizar su veneno como mecanismo de ataque o defensa. En este caso, al ser resultados de carácter novel, invitan a la realización de ensayos futuros para determinar la concentración de proteínas en el veneno de individuos silvestres, y a luego de repetir los ensayos clínicos utilizando estas concentraciones, permitiendo que los resultados se aproximen más a la situación clínica de envenenamiento.

Los resultados del presente estudio también indican que el veneno de *S. gigantea* no posee efecto sobre la aglutinación de los eritrocitos, con la metodología estándar empleada, y aunque lo tuviera, este probablemente se vería enmascarado por la rapidez con que se produce el efecto hemolítico. Este último puede estar mediado en su mayoría por fosfolipasas de tipo A2 (38, 39), que actúan sobre lecitina exógena, liberando los ácidos grasos de la membrana eritrocitaria y provocando su lisis (1), por lo que para determinar el efecto de hemaglutinación se tendría que inhibir la acción de dichas enzimas.

En otros invertebrados como la araña brasileña *Loxosceles intermedia* demostraron que el proceso hemolítico esta mediado por dos enzimas denominadas P1 y P2, que realizan cortes en glicoforinas C de la superficie de los eritrocitos, comprometiendo el mantenimiento de la estructura globular de esas células (40). Estos estudios y la alta actividad hemolítica encontrada para el veneno de *S. gigantea* exponen también la necesidad de caracterizar el perfil proteico y enzimático de este.

En el veneno de otros animales ponzoñosos (escorpiones del género *Androctonus*, y serpientes de la especie

Bothrops hyoprurus y *Crotalus ravus*), no se ha observado AHD (24, 25, 41). De hecho, los estudios sobre la actividad hemolítica y el efecto hemaglutinante y de coagulación del veneno de ciempiés son escasos, y no existe ningún otro en el mundo realizado, empleando veneno de *S. gigantea*. Por tanto, los resultados de este trabajo, demuestran que este veneno induce una prominente AHD en eritrocitos humanos de tipo 0Rh+, de forma dosis-dependiente. Esto podría ser extrapolable al resto de los grupos sanguíneos, debido a que la acción hemolítica no depende del tipo de antígeno presente en la membrana eritrocitaria. Además, sugiere que a las personas que presenten emponzoñamiento con este animal se les debe administrar tratamiento para disminuir el efecto hemolítico producido por su veneno, como parte de un protocolo de atención inmediata y no sintomatológica.

El veneno de *S. gigantea* no alteró significativamente los tiempos de coagulación del plasma humano a las concentraciones evaluadas y, considerando que la formación de coágulos se evidenció en todas las muestras a las que se había añadido veneno, pareciera que su presencia en la mezcla no altera la conversión del fibrinógeno en fibrina. Esto se corresponde con lo reportado anteriormente con otras especies de ciempiés (1), donde no se obtuvo actividad coagulante, lo que sugiere que el veneno de estos invertebrados no interfiere con los procesos de coagulación.

El efecto coagulante si se observa en presencia del veneno de serpientes, principalmente del género *Bothrops*, y para otros invertebrados como los escorpiones, cuyo veneno posee un efecto pro y anticoagulante. Tal es el caso de *Tityus discrepans*, de cuyo veneno se describieron fracciones proteicas con efecto procoagulante parecido al factor X, mientras que las otras mostraron un efecto inhibitor sobre este mismo factor de la coagulación (26).

Se puede concluir que el veneno de *S. gigantea* posee una fuerte actividad hemolítica directa, que alcanza su capacidad máxima a una concentración proteica de 0,0827 µg/µL en tan solo 30 minutos, con sangre humana tipo 0Rh+, y que este efecto presenta una dinámica dosis-dependiente. Contrariamente, el veneno no parece presentar actividad hemaglutinante ni de coagulación, al menos en cuanto a la transformación de fibrinógeno en fibrina. Esta información inédita, será de ayuda en el futuro establecimiento de un tratamiento, aspecto estudiado ampliamente en venenos de serpientes y arañas, para los que se han desarrollado exitosos tratamientos y esquemas terapéuticos (42).

AGRADECIMIENTOS. Al Zoológico de Paraguaná y su personal: Marisabel Santana (directora), Rodrigo y Gregorio (Personal Obrero (Sandra, Emil, Emil de Jesús y Emely). Personal del Departamento de Biología (FACyT-UC), no existiendo conflicto de intereses. El financiamiento

de este trabajo fue cubierto con recursos propios de los investigadores, al no existir financiamiento institucional alguno en el país.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Malta MB, Lira MS, Soares SL, Rocha GC, Knysak I, Martins R, Guizze SPG, Santoro ML, Barbaro KC. Toxic activities of Brazilian centipede venoms. *Toxicon*. 2008; 52:255-263.
2. Fernández F. Artrópodos y salud humana. *Bol. S.E.A.* 1997; 20:167-191.
3. Lovcheva M, Zlateva S, Marinov P, Sabeva Y. Toxoallergic reactions after a bite from myriapoda, genus *Scolopendra* in Varna región during the periodo 2003-2007. *J IMAB*. 2008; 14:79-82.
4. González A, Rodríguez A, Gassette J, Ghisoli M, Sanabria E, Reyes-Lugo M. Aspectos bioecológicos de la escolopendra (*Scolopendra gigantea* Linnaeus 1758) y la actividad histopatológica de su veneno. *Rev Cien FCV-LUZ*. 2000; 10:303-309.
5. Monzón FJ, Blasco RM. Patología causada por artrópodos de interés toxinológico y alergológico. *Bol S.E.A.* 1997; 20:193-215.
6. Rodríguez A, Gassette J, González A, Ghisoli M. Centipede (*Scolopendra gigantea* Linnaeus 1758) envenomation in a newborn. *Rev Inst Med Trop S Paulo*. 2000; 42:341-342.
7. Fung HT, Lam SK, Wong OF. Centipede bite victims: a review of patients presenting to two emergency departments in Hong Kong. *Hong Kong Med J*. 2011; 17:381-385.
8. Veraldi S, Cuka E, Gaiani F. Tropical medicine rounds *Scolopendra* bites: a report of two cases and review of the literature. *I J Dermatology*. 2014; 53:869-872.
9. Haddad V, Haddad P, Teixeira W, Costa J. Venomous and poisonous arthropods: identification, clinical manifestations of envenomation, and treatments used in human injuries. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2015; 48(6):650-657.
10. Undheim EA, King GF. On the venom system of centipedes (Chilopoda), a neglected group of venomous animals. *Toxicon*. 2011; 57:512-524.
11. Rodríguez A, Ghisoli M, Gassette J, González A, Reyes M. Venezuelan outbreak of venomous accidents produced by centipedes (*Scolopendra gigantea* Linnaeus 1758) (*Scolopendromorpha: Scolopendrinae*). *Acta Biol Venez*. 2000;20:67-70.
12. Ministerio de Salud y Desarrollo Social de la República Bolivariana de Venezuela, 2010. Anuario de Mortalidad 2008. Disponible en: <https://www.ovsalud.org/publicaciones/documentos-oficiales/anuario-mortalidad-2008/>. (Acceso 08 de agosto 2017).
13. Ministerio de Salud y Desarrollo Social de la República Bolivariana de Venezuela, 2011. Anuario de Mortalidad 2008. Disponible en: <https://www.ovsalud.org/publicaciones/documentos-oficiales/anuario-mortalidad-2009/>. (Acceso 08 de agosto 2017).

14. Ministerio de Salud y Desarrollo Social de la República Bolivariana de Venezuela, 2003. Anuario de Mortalidad 2002. Disponible en: <https://www.ovsalud.org/publicaciones/documentos-oficiales/anuario-mortalidad-2002/>. (Acceso 08 de agosto 2017).
15. Ministerio de Salud y Desarrollo Social de la República Bolivariana de Venezuela, 2004. Anuario de Mortalidad 2003. Disponible en: <https://www.ovsalud.org/publicaciones/documentos-oficiales/anuario-mortalidad-2003/>. (Acceso 08 de agosto 2017).
16. Acosta ME, Carzola DJ. Envenenamiento por ciempiés (*Scolopendra* sp.) en una población rural de la zona semiárida del estado Falcón, Venezuela. *Rev Invest Clin*. 2004; 56:712-717.
17. Cazorla DJ, Loyo JE, Lugo LN, Acosta ME, Morales P. Aspectos clínicos, epidemiológicos y de tratamiento de 11 casos de envenenamiento por ciempiés en Adícora, Península de Paraguaná, estado Falcón, Venezuela. *Acta Toxicol Argent*. 2012; 20:25-33.
18. Dugon M. Evolution, Morphology and Development of the Centipede Venom System. *Evolution of Venomous Animals and Their Toxins*. 2015; 1:261-278.
19. Ombati, R, Luo L, Yang S, Lai R. Centipede Envenomation: Clinical Importance and the Underlying Molecular Mechanisms. *Toxicon*. 2018; 154:60-68.
20. De Sousa L, Borges A, De Sousa-Insana E, Vásquez-Suárez A. Mortalidad causada por animales venenosos en Venezuela (2000-2009): nuevo patrón epidemiológico. *Biomédica*. 2021; 41(1): EN PRENSA.
21. Chaturaka Rodrigo C, Gnanathanan A. Management of scorpion envenoming: a systematic review and meta-analysis of controlled clinical trials. *Systematic Reviews*. 2017; 6:74-85.
22. Jiménez, J. Bioquímica, farmacología y fisiopatología de los venenos de serpientes. *Reu Univ Costa Rica*. 1970; 28:43.
23. Hakim A, Yang S, Lai R. Review Centipede Venoms and Their Components: Resources for Potential Therapeutic Applications *Toxins*. 2015; 7: 4832-4851.
24. Salama W, Geasa N. Investigation of the antimicrobial and hemolytic activity of venom of some Egyptian scorpion. *J Microbiol Antimicrob*. 2014; 6(1): 21-28.
25. Escobar E, Tincopa R, Ochoa JA. Estudio bioquímico del veneno de *Tityus kaderkai* (Scorpiones: Buthidae) con notas sobre su distribución y hábitat en el Perú. *Rev Peru Biol*. 2013; 20:151-158.
26. Brazon JM, Guerrero B, D' Suze G, Sevcik C, Arocha-Piñango CL. Anticoagulant and factor Xa-like activities of *Tityus discrepans* scorpion venom. *Acta Toxicol Argent*. 2013; 21:25-31.
27. Theakston R, Laing G. Review Diagnosis of Snakebite and the Importance of Immunological Tests in Venom Research. *Toxins*. 2014; 6: 1667-1695.
28. Shelley R. & Kiser S. Neotype designation and a diagnostic account for the centipedes, *Scolopendra gigantea* L. 1758, with an account of *Scolopendra galapogoensis* Bollman 1889 (Chilopoda: Scolopendromorpha: Scolopendridae). *Trop Zool*. 2000; 13:159-170.
29. Luna J. Técnicas de colecta y preservación de insectos. *Boletín Sociedad Entomológica Aragonesa*. 2005; 1(37): 385-408.
30. Bradford MM. A rapid and sensitive for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Ann Biochem*. 1976; 72:248-254.
31. World Health Organization 2011. OMS/SIGN: Carpeta de material sobre seguridad de las inyecciones y los procedimientos conexos. Disponible en: <http://apps.who.int/iris/handle/10665/75247?locale=es>. (Acceso 08 de agosto 2017).
32. Linares J. Inmunohematología y transfusión. Principios y procedimientos. Editorial Cronotip. Caracas 1986. p.425.
33. Santoro ML, Sano-Martins IS. Different clotting mechanisms of *Bothrops jararaca* snake venom on human and rabbit plasmas. *Toxicon*. 1993; 31:733-742.
34. Gaudens L. Manual de Hemostasia y Coagulación Sanguínea. Universidad Central de Venezuela, Ediciones de la Biblioteca. Caracas. 1984; p. 485.
35. Lodena J, Segera D, Spiller H, Wange L, Byrne D. Cutaneous-hemolytic loxoscelism following brown recluse spider envenomation: new understandings. *Cinical toxicology*. 2020; 58(12): 1-9.
36. Pyo S, Kang D, Jung C, Sohn H. Anti-Thrombotic, Anti-Oxidant and Haemolysis Activities of Six Edible Insect Species. *Foods*. 2020; 9(4):1-13.
37. Parrilla-Alvarez P, Navarrete LF, Girón ME, Aguilar I, Rodríguez-Acosta A. Use of hen egg derived immunoglobulin against scolopendra (*Scolopendra gigantea*) venom. *Rev Cien FCV-LUZ*. 2008; 18:385-392.
38. González-Morales L, Diego-García E, Segovia L, Gutierrez MC, Possani LD. Venom from the centipede *Scolopendra viridis* say: purification, gene cloning and analysis phylogenetic of a phospholipase A2. *Toxicon*. 2009; 54:8-15.
39. Krayem N, Gargouri Y. Scorpion venom phospholipases A2: A minireview. *Toxicon*. 2020; 184:48-54.
40. Tambourgi DV, Morgan BP, de Andrade RMG, Magnoli FC, van den Berg CW. *Loxosceles intermedia* spider envenomation induces activation of an endogenous metalloproteinase, resulting in cleavage of glycoporphins from the erythrocyte surface and facilitating complement-mediated lysis. *Blood*. 2000; 95:983-691.
41. Zaragoza A, Consecpcion S, Aguilar L, Morales A, Valladares B, Rangel L, Olmedo A, Rosenfeld C, Rivero N. Antibacterial and Hemolytic Activity of *Crotalus triseriatus* and *Crotalus ravus* Venom. *Animals*. 2020; 10 (281):1-9.
42. Lazarovici, P. Snake- and Spider-Venom-Derived Toxins as Lead Compounds for Drug Development. In: *Snake and Spider Toxins: Methods and Protocols*, Springer Nature. 2020; 2068:1-25.