

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO**

**FACULTAD DE QUÍMICA**

**“INFLUENCIA DEL CALCIO EXTRACELULAR EN EL  
EFECTO DEL VENENO DE *Poecilotheria regalis* SOBRE  
LAS CONTRACCIONES ESPONTÁNEAS DEL ÍLEON  
AISLADO DE RATA”**

**TESIS**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE  
QUÍMICO FARMACÉUTICO BIOLÓGO**

**PRESENTA**

**DIEGO GONZÁLEZ RODRÍGUEZ**

**DIRIGIDA POR**

**Dr. ALEJANDRO GARCIA ARREDONDO**

**SANTIAGO DE QUERÉTARO, QUERÉTARO, 2025.**

La presente obra está bajo la licencia:  
<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/deed.es>



CC BY-NC-ND 4.0 DEED

Atribución-NoComercial-SinDerivadas 4.0 Internacional

### Usted es libre de:

**Compartir** — copiar y redistribuir el material en cualquier medio o formato

La licenciante no puede revocar estas libertades en tanto usted siga los términos de la licencia

### Bajo los siguientes términos:



**Atribución** — Usted debe dar [crédito de manera adecuada](#), brindar un enlace a la licencia, e [indicar si se han realizado cambios](#). Puede hacerlo en cualquier forma razonable, pero no de forma tal que sugiera que usted o su uso tienen el apoyo de la licenciante.



**NoComercial** — Usted no puede hacer uso del material con [propósitos comerciales](#).



**SinDerivadas** — Si [remezcla, transforma o crea a partir](#) del material, no podrá distribuir el material modificado.

**No hay restricciones adicionales** — No puede aplicar términos legales ni [medidas tecnológicas](#) que restrinjan legalmente a otras a hacer cualquier uso permitido por la licencia.

### Avisos:

No tiene que cumplir con la licencia para elementos del material en el dominio público o cuando su uso esté permitido por una [excepción o limitación](#) aplicable.

No se dan garantías. La licencia podría no darle todos los permisos que necesita para el uso que tenga previsto. Por ejemplo, otros derechos como [publicidad, privacidad, o derechos morales](#) pueden limitar la forma en que utilice el material.



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO**

**FACULTAD DE QUÍMICA**

**“INFLUENCIA DEL CALCIO EXTRACELULAR EN EL  
EFECTO DEL VENENO DE *Poecilotheria regalis* SOBRE  
LAS CONTRACCIONES ESPONTÁNEAS DEL ÍLEON  
AISLADO DE RATA”**

**TESIS**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE  
QUÍMICO FARMACÉUTICO BIOLÓGO**

**PRESENTA**

**DIEGO GONZÁLEZ RODRÍGUEZ**

**DIRIGIDA POR**

**Dr. JOSÉ ALEJANDRO GARCÍA ARREDONDO**

**SINODALES**

**Dr. JOSÉ ALEJANDRO GARCÍA ARREDONDO**

**DIRECTOR**

**Dr. MAMADOU MOUSTAPHA BAH**

**SINODAL**

**Dr. CÉSAR IBARRA ALVARADO**

**SINODAL**

**Dra. ALEJANDRA ROJAS MOLINA**

**SINODAL**

## **Dedicatoria**

El final es parte del camino, y la presente tesis concluye mi formación de licenciatura y de una travesía comenzada hace 4 años, por ello agradezco a mis padres y mi hermana por todo su amor, apoyo y respaldo a lo largo del trayecto, por mostrarme con el ejemplo, la fortaleza y fe necesarias para enfrentar las adversidades.

A mis padrinos, Alicia y Fernando por su ayuda, consideración y por ofrecerme un techo fuera de mi hogar, a mis abuelos Cornelia y Ramon, mis primos Fernando, Ady Melba y Jahel; y mis tíos Maricruz, Blanca, Kikey, Karen y Joel porque durante este tiempo siempre me ofrecieron una mano, un taco o un consejo.

Al doctor Alejandro García por recibirme como tesista, guiarme y ayudarme, incluso más de lo que debía. Y a los profesores que me ayudaron a lo largo de la carrera, en especial a la maestra Areli, el Mtro. Isidro y la Dra. Jessica.

A todas las personas que me acompañaron y brindaron su cariño y amistad, e hicieron de la universidad un refugio de risas y peripecias, Ana, Luz, Yael, Sofi, Jaza, Vale, Saily y a todos aquellos que estuvieron conmigo, hasta el final o por un momento<sup>1</sup>, gracias.

Con mucho cariño.

Pr 16:9

## ÍNDICE GENERAL

|                                                                              |    |
|------------------------------------------------------------------------------|----|
| RESUMEN .....                                                                | 1  |
| INTRODUCCIÓN .....                                                           | 1  |
| 1. ANTECEDENTES .....                                                        | 3  |
| I. Arácnidos .....                                                           | 3  |
| I.1 Familia Theraphosidae .....                                              | 4  |
| I.2 <i>Poecilotheria regalis</i> “Pocock” .....                              | 6  |
| I.3 Veneno de tarántulas .....                                               | 8  |
| I.3.1 Efecto del veneno de <i>P. regalis</i> sobre aorta .....               | 11 |
| I.3.2 Efecto del veneno de <i>P. regalis</i> en músculo liso intestinal..... | 12 |
| II. Potencial terapéutico de los venenos de araña .....                      | 13 |
| 2. HIPÓTESIS.....                                                            | 15 |
| 3. OBJETIVO .....                                                            | 16 |
| 4. METODOLOGÍA .....                                                         | 17 |
| V.1 Métodos.....                                                             | 17 |
| V.1.1 Animales en experimentación .....                                      | 17 |
| V.1.2 Recolección y obtención del veneno de arácnidos.....                   | 18 |
| V.1.3 Cuantificación de proteína total en el veneno.....                     | 18 |
| V.1.4 Ensayo de íleon aislado de rata .....                                  | 18 |
| V.1.5 Análisis estadístico .....                                             | 19 |

|                                 |    |
|---------------------------------|----|
| V.2 Diseño experimental.....    | 19 |
| 5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN ..... | 21 |
| 6. CONCLUSIONES .....           | 28 |
| 7. BIBLIOGRAFÍA.....            | 29 |

## ÍNDICE DE FIGURAS

| Figura | Título                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                | Página |
|--------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------|
| 1      | Filogenia hipotética ilustrada de la relación entre los órdenes pertenecientes a la clase Araneae.                                                                                                                                                                                                                                    | 3      |
| 2      | Posición de los colmillos (quelíceros) para la distinción entre el suborden Mygalomorphae (a) (tarántulas) y Araneomorphae (b) (arañas).                                                                                                                                                                                              | 4      |
| 3      | Tipos de setas urticantes (Tipo I al VII) presentes en la familia Theraphosidae, localizadas en el nuevo mundo. Se utilizan como medida de defensa y son útiles para dilucidar aspectos filogenéticos.                                                                                                                                | 5      |
| 4      | Identificación de algunas especies de la familia Poecilotheriinae según la distribución, longitud y coloración de las patas (I-IV).                                                                                                                                                                                                   | 7      |
| 5      | Representación de listón de distintas toxinas ICK de tarántula.                                                                                                                                                                                                                                                                       | 10     |
| 6      | Curva control con albúmina sérica bovina para la determinación de proteína por el método del ácido bicinconínico.                                                                                                                                                                                                                     | 21     |
| 7      | Efecto del veneno de <i>P. regalis</i> (Prv) sobre el tono del músculo liso intestinal en segmentos de íleon aislado de rata.                                                                                                                                                                                                         | 22     |
| 8      | Efecto del veneno de <i>P. regalis</i> (Prv) y del verapamilo sobre la contracción inducida por cloruro de calcio en segmentos de íleon aislado de rata en un medio libre de calcio.                                                                                                                                                  | 23     |
| 9      | Efecto contráctil inducido por cloruro de calcio sobre los segmentos de íleon aislados de rata en un medio libre de calcio, en ausencia y presencia del veneno de <i>P. regalis</i> (Prv) o verapamilo. *Muestra diferencias significativas mediante un ANOVA de una vía con un análisis <i>pos hoc</i> de Dunnett ( $p \leq 0.05$ ). | 24     |
| 10     | Esquematzación del mecanismo de contracción y relajación del músculo liso.                                                                                                                                                                                                                                                            | 25     |

## RESUMEN

Las tarántulas son un grupo de arañas pertenecientes a la familia Theraphosidae, cuyos venenos están constituidos por una mezcla de diversas biomoléculas que actúan sobre distintos blancos moleculares, por lo que se les considera como fuentes importantes de nuevos compuestos con actividad biológica, útiles como herramientas de investigación farmacológica. Las tarántulas del género *Poecilotheria* destacan porque sus venenos provocan síntomas locales y sistémicos que requieren atención médica, por lo que resulta importante ampliar la información acerca de sus efectos y sus mecanismos. Teniendo en consideración lo anterior, se determinó la participación del calcio extracelular en el efecto del veneno de *P. regalis* sobre las contracciones espontáneas del íleon de rata. Para esto, se emplearon segmentos de íleon aislados de rata, en los cuales se registró el efecto del veneno sobre las contracciones espontáneas mediante un fisiógrafo. Se utilizó un diseño experimental con grupos de tratamiento y controles para la comparación de resultados. La significancia de la diferencia en la fuerza de contracción fue determinada mediante un análisis ANOVA de una vía con un análisis *pos hoc* de Dunnett ( $p \leq 0.05$ ). Los resultados obtenidos en este estudio mostraron que el veneno de *P. regalis* reduce significativamente las contracciones inducidas por cloruro de calcio en los segmentos de íleon, de manera similar al verapamilo. Esta información muestra que el veneno de esta especie es una fuente importante de toxinas que actúan sobre canales de calcio, representando la base para futuras investigaciones dirigidas a la caracterización de este tipo de toxinas.

## INTRODUCCIÓN

Las tarántulas son un grupo de arañas pertenecientes a la familia Theraphosidae que se caracterizan por sus grandes dimensiones. Los venenos de estas especies están constituidos por una mezcla de diversas biomoléculas, entre las que se encuentran péptidos neurotóxicos, proteínas con actividad enzimática y otros componentes no peptídicos como sales y acilpoliaminas. Lo anterior ha contribuido a que los venenos de tarántula sean considerados como fuentes importantes de nuevos compuestos con actividad biológica útiles en investigación científica, ya que estas nuevas moléculas podrían ser de utilidad en el desarrollo de herramientas de investigación farmacológica y prototipos de nuevos agentes terapéuticos.

Para los seres humanos, las mordeduras de tarántula no se consideran letales. No obstante, se cree que el género *Poecilotheria* está subestimado debido a que sus venenos provocan síntomas locales y sistémicos que requieren atención médica. Este género incluye 15 especies de tarántulas arborícolas que son endémicas de Sri Lanka e India. Actualmente, se consideran como mascotas exóticas, por lo que es común que se reproduzcan en cautiverio y se comercialicen ampliamente entre los coleccionistas. Algunos reportes clínicos describen los síntomas que provocan las mordeduras de tarántulas del género *Poecilotheria*, tanto de especímenes criados en cautiverio como de especímenes de vida silvestre. Estos síntomas incluyen calambres musculares que pueden durar hasta por siete días (reportados en el 58 % de los casos), dolor local intenso, entumecimiento local, inflamación local y dolor muscular generalizado aproximadamente un día después de la mordedura. A pesar de la intensidad de los síntomas, no se conoce un tratamiento terapéutico específico.

Se han realizado pocos estudios acerca de la composición y de los efectos toxicológicos de los venenos de las tarántulas del género *Poecilotheria*. Se ha encontrado que los venenos de varias de estas especies producen convulsiones periódicas sincrónicas y muerte en ratones.

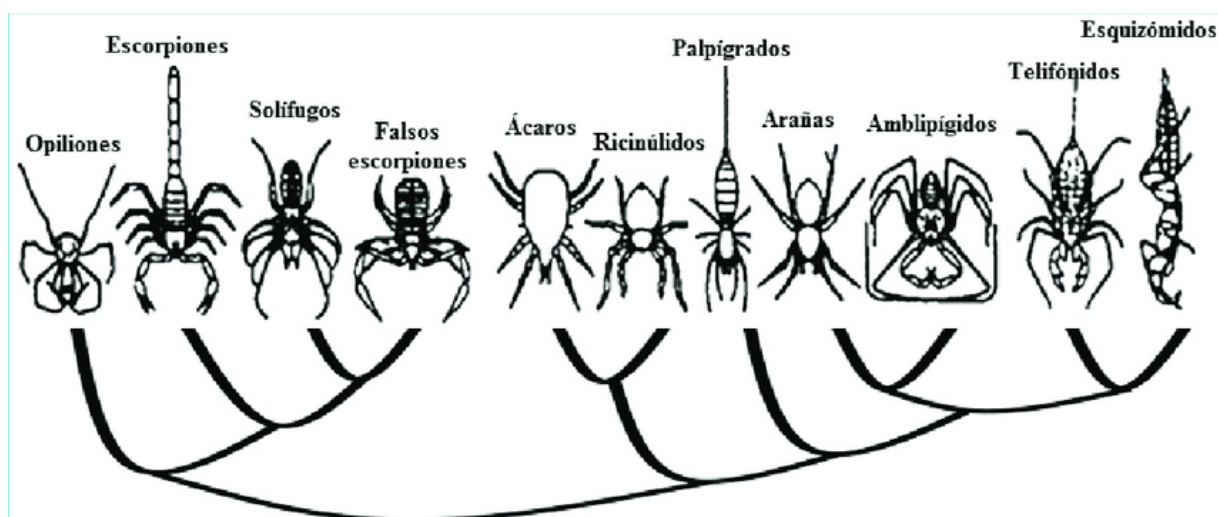
La composición de estos venenos, al igual que la de los venenos de tarántulas de otros géneros, incluye principalmente péptidos y proteínas, siendo las enzimas con actividad de hialuronidasa componentes comunes, con pesos aproximados de 40 kDa. Además, se ha encontrado que los venenos de *P. regalis* y *P. ornata* producen vasodilatación en segmentos de aorta aislados de rata mediante mecanismos que involucran la participación de calcio y la activación de la vía del óxido nítrico-GMP cíclico.

En un estudio reciente, se encontró que el veneno de *P. regalis* inhibe las contracciones espontáneas de segmentos de íleon aislado de rata a una concentración de 20 µg de proteína/ml. Este efecto podría ser resultado de una mezcla de efectos neurotóxicos que involucran la participación de diferentes tipos de canales iónicos, ya que los venenos de araña se caracterizan por poseer toxinas que actúan sobre diferentes tipos de canales iónicos, siendo los más comunes los de sodio y de potasio, aunque algunos estudios también muestran la participación de canales de calcio. Considerando que el veneno de *P. regalis* podría ser una fuente importante de toxinas que actúan inhibiendo principalmente diversos tipos de canales de calcio, el objetivo de este estudio es determinar la participación del calcio extracelular en el efecto del veneno de *P. regalis* sobre las contracciones espontáneas de segmentos de íleon aislado de rata. Los resultados derivados de este estudio ayudarán al diseño de experimentos dirigidos a la purificación y análisis de nuevas neurotoxinas que actúen inhibiendo canales de calcio.

## 1. ANTECEDENTES

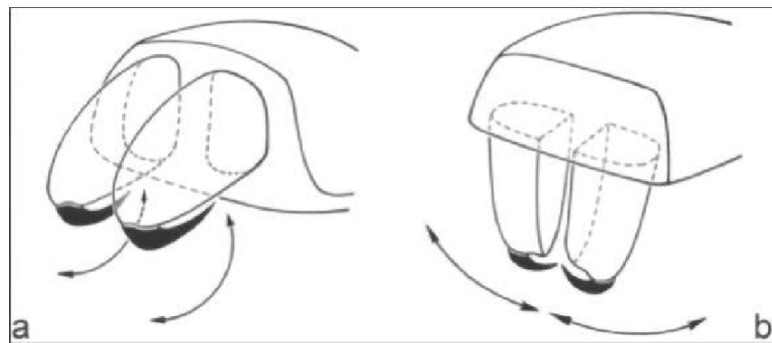
### I. Arácnidos

La clase Arachnida es una clasificación taxonómica perteneciente al filo Arthropoda que engloba los artrópodos de 8 patas, como las arañas o los alacranes. Una gran variedad de estas especies presentan la particularidad de excretar veneno para sus funciones de caza y defensa. Los arácnidos suelen dividirse en 11 órdenes, detallados en la Figura 1, los cuales son: Acari (ácaros y garrapatas), Amblypygi (arañas látigo), Opiliones (arañas patonas), Palpigradi (palpígrados), Pseudoscorpionida (falsos escorpiones), Ricinulei (ricinúlidos), Schizomida (esquizómidos), Scorpiones (escorpiones o alacranes), Solifugae (matavenados), Thelyphonida (vinagrillos) y Araneae (arañas). Las arañas cuentan con una amplia diversidad, 47,000 especies descritas hasta el momento. La gran mayoría de las cuales produce venenos constituidos por mezclas complejas de componentes que tienen la función principal de paralizar a la presa o alejar a los depredadores. Dicho veneno es secretado por glándulas especializadas que se localizan en estructuras que se encuentran cerca de la boca, llamadas quelíceros. El veneno es inyectado en la presa a través de los colmillos al morder (Guo y col., 2023).



**Figura 1.** Filogenia hipotética ilustrada de la relación entre los órdenes pertenecientes a la clase Araneae adaptado de Martínez-Martínez y col., 2015.

El orden Araneae se reclasifica en 2 subórdenes: Mygalomorphae y Araneomorphae, que se diferencian por la orientación de los colmillos de los quelíceros. En las especies del suborden Araneomorphae, los quelíceros son diaxiales, mientras que en el suborden Mygalomorphae, son paraxiales como lo representa la Figura 2. En el suborden Araneomorphae se encuentran especies conocidas por su significancia clínica, como la viuda negra (género *Latrodectus*), la araña violinista (género *Loxosceles*) o la araña bananera (género *Phoneutria*). Por otro lado, el suborden Mygalomorphae está compuesto por arañas de cuerpos más pesados; entre estas especies destacan la araña de embudo australiana (género *Atrax*) y las arañas de grandes dimensiones comúnmente conocidas como tarántulas (familia Theraphosidae) (Hernández-Sotelo, 2022; WSC, 2025).

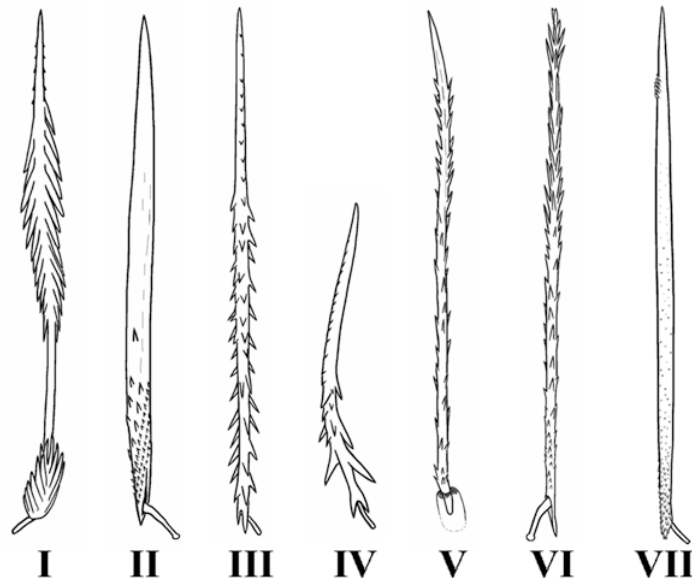


**Figura 2.** Posición de los colmillos (quelíceros) para la distinción entre el suborden Mygalomorphae (a) (tarántulas) y Araneomorphae (b) (arañas) adaptado de Cipola-Gioia y col., 2019.

### I.1 Familia Theraphosidae

La familia Theraphosidae comprende alrededor de 1,153 especies que se incluyen en al menos 176 géneros de distribución cosmopolita (WSC, 2025). Estas especies se conocen comúnmente como tarántulas. Morfológicamente, se distinguen por la presencia de escápulas tarsales densas en todas las patas y la presencia de fascículos subungueales que les permiten trepar por superficies verticales. Además de dos uñas tarsales con escasos dientes o ausencia de estos. Paralelamente, el tipo de seta presente en sus patas es un factor fundamental para su clasificación dentro de la familia Theraphosidae (Figura 3). La mayoría de las especies de

tarántulas está presente en el continente americano y suelen vivir en cuevas, en el suelo o debajo de piedras, mientras que algunas especies tropicales habitan en los árboles (Pérez-Miles y col., 2017; Pérez-Miles, 2020).



**Figura 3.** Tipos de setas urticantes (Tipo I al VII) presentes en la familia Theraphosidae, localizadas en el nuevo mundo. Se utilizan como medida de defensa y son útiles para dilucidar aspectos filogenéticos adaptado de Kaderka y col., 2019.

A pesar de su tamaño y apariencia, el veneno de la mayoría de las tarántulas es inofensivo para el ser humano. Algunos autores mencionan que el efecto general de la mordedura de tarántula es similar al efecto de un piquete de avispa. No obstante, los venenos de tarántulas están constituidos por una mezcla ampliamente diversa de componentes, tales como: enzimas de alto peso molecular, péptidos y poliaminas neurotóxicas, ácidos nucleicos, monoaminas y sales inorgánicas (Escoubas y col., 2004). La mayor parte de los efectos de los venenos de tarántulas se deben a la presencia de péptidos neurotóxicos que modulan diferentes tipos de canales iónicos. Muchos de estos péptidos cuentan con nudos de cisteína formados por puentes disulfuro que les confieren estabilidad ante diferentes factores. Entre los canales que suelen modular estos péptidos, se encuentran diversos tipos de canales dependientes de voltaje como los de calcio ( $Ca_v^{++}$ ), sodio ( $Na_v^{+}$ ), potasio ( $K_v^{+}$ ) y cloro

(Clv). Existe una amplia diversidad estructural entre los péptidos neurotóxicos de cada especie; esto hace que los venenos de tarántula, a pesar de no ser letales para los humanos, son de interés en la comunidad científica para el estudio de nuevos compuestos bioactivos con aplicación potencial en biotecnología y farmacología (Escoubas y col., 2004). Es de resaltar que las tarántulas del viejo mundo suelen ser más reactivas y agresivas que las del continente americano que prefieren escapar a tratar de morder. Pocas especies son de relevancia clínica, por ejemplo, especímenes del género *Pterinochilus*, *Poecilotheria* o *Hysteroocrates* (Ahmed y col., 2009; Fuchs y col., 2014).

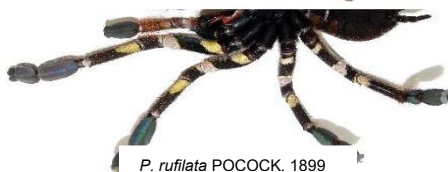
## 1.2 *Poecilotheria regalis* “Pocock”

El género *Poecilotheria* consta de 16 especies (WSC, 2025) y es originario de las regiones de Sri Lanka y la India subcontinental (contando cada país con 8 especies endémicas); las primeras especies del género fueron documentadas en 1804 por Latreille. Con la posterior exploración de Sri Lanka en 1869, el género fue aumentando sus especies, siendo el mayor representante de migalomorfos en la zona, aunque su recolección para venderse como mascotas y la reducción de su hábitat natural por la tala de árboles, ha puesto algunos representantes del género como la *Poecilotheria hanumavilasumica* en la lista de especies amenazadas (Nanayakkara y col., 2015).

Las arañas de este género son características por su gran tamaño, sus coloridas marcas dorsales que varían en colores marrón, negro y gris, con algunas excepciones en colores azul metálico, verde, amarillo y negro; en su parte ventral entre las patas I y IV presentan marcas de amarillo intenso, blanco, lila y negro, según la especie, como se observa en la Figura 4. En comparación con otras arañas terafósidas, este género posee las especies de arañas más coloridas del mundo, y se les conoce por ser muy rápidas y tener un potente veneno (Nanayakkara y col., 2012). Debido a su estilo de vida arbóreo, los microhábitats preferidos de estas especies son hoyos en los árboles, contando con poblaciones reducidas, como sugieren las observaciones (Samarawickrama y col., 2005).

# Poecilotheria SIMON, 1885

## India



## Sri Lanka



poecil  
mygale.de

**Figura 4.** Identificación de algunas especies de la familia *Poecilotheriinae* según la distribución, longitud y coloración de las patas (I-IV) adaptado de Meyer, 2016.

En contraste con su creciente popularidad como mascotas, el género apenas está siendo estudiado como consecuencia de su domesticación, pues la mordedura de estas tarántulas tiene como consecuencia: dolor en la zona de la picadura que puede extenderse al miembro, adormecimiento o calambres musculares (Ahmed y col., 2009; Fuchs y col., 2014; García-Arredondo y col., 2024). De entre las especies conocidas dentro de la subfamilia *Poecilotheriinae*, *Poecilotheria regalis* ha sido caso de estudio en años recientes, como producto de su comercialización como mascota. También conocida como “araña ornamental de la India”, esta especie es una tarántula endémica del sudeste de la India, de hábitos arborícolas y un comportamiento nervioso y veloz (García-Arredondo y col., 2024). *P. regalis* se puede distinguir del resto de las especies de este género por la presencia de la amplia banda rojiza en el lado ventral del abdomen. Los machos suelen avistarse con frecuencia durante la temporada de lluvias, cuando deambulan para aparearse. Durante su búsqueda, los machos pueden entrar en recintos humanos, lo que aumenta el riesgo de picaduras (Rao y col., 2004).

Además de los accidentes causados por arañas silvestres, surgen casos de picaduras de *P. regalis* que se tienen como mascotas. A medida que la especie se popularizó, los casos de envenenamientos se vuelven más comunes, a pesar de las recomendaciones para una manipulación segura y un alojamiento adecuado, además de las picaduras que pueden surgir como accidentes al momento de manipular ejemplares para el estudio de su veneno (Richards y col., 2023; García-Arredondo y col., 2024).

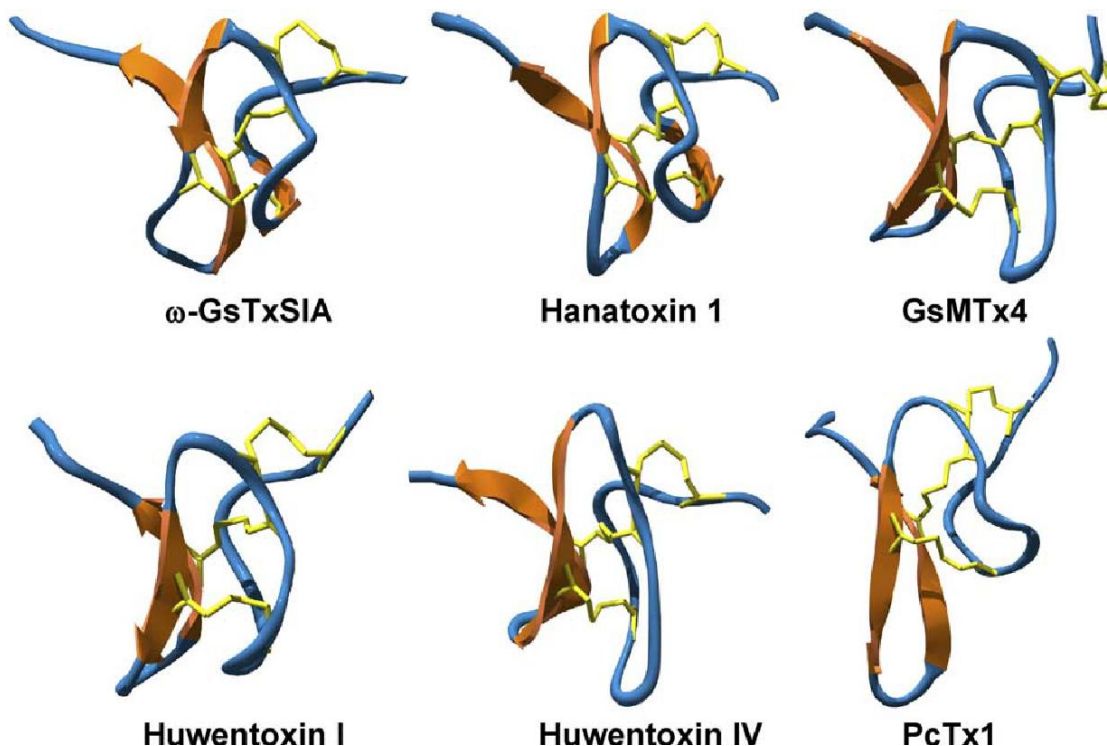
### 1.3 Veneno de tarántulas

Generalmente, los venenos de tarántulas están compuestos por una amplia variedad de moléculas que varían de entre cientos hasta los cientos de miles de daltons. Estas toxinas son sintetizadas mediante elementos del metabolismo, a través de glándulas especializadas que se han perfeccionado evolutivamente, con el fin de actuar sobre determinados canales y así cumplir el efecto objetivo que es inducir parálisis y/o dolor. Regularmente, la diana biológica de estos venenos consiste en canales

dependientes de voltaje (García-Arredondo y col., 2015; Díaz Peña y col., 2019; Díaz-Peña y col., 2023).

Las toxinas presentes en los venenos de tarántulas se pueden clasificar según su peso molecular: las toxinas de bajo peso molecular  $<1$  kDa, que engloba acilpoliaminas, poliaminas, péptidos citolíticos, toxinas de peso molecular medio  $<10$  kDa y toxinas de alto peso molecular  $>10$  kDa. La actividad de estos compuestos varía desde una actividad antimicrobiana, hasta una actividad neurotóxica o citotóxica (Estrada-Gómez y col., 2015). Gracias a su promiscuidad con diversos receptores, desde el 2008, se estableció una nomenclatura que clasifica a las diferentes toxinas según la subfamilia taxonómica, esclareciendo al mismo tiempo la diana biológica. Simultáneamente, se especifica el género y la especie del organismo que sintetiza la toxina y distingue toxinas con farmacología similar y denota parálogos y homólogos (King y col., 2008).

Debido a sus múltiples dianas biológicas, los péptidos y proteínas son los componentes más estudiados en los venenos de tarántulas. Muchas de estas proteínas presentan en su estructura un motivo conocido como “nudo inhibidor de cistina”, por sus siglas en inglés “ICK”; un motivo (*motif*) es un patrón de secuencia corto y conservado que se asocia con un sitio estructural específico que realiza una función determinada en una proteína. El motivo ICK se compone de puentes disulfuro que enlazan a 3 pliegues  $\beta$  antiparalelos. Estos puentes son productos de la oxidación de grupos sulfhídrido pertenecientes a 6 residuos de cisteínas que se encuentran distribuidas en la estructura primaria con una secuencia: CI–CIV, CII–CV y CIII–CVI, desde el extremo amino al carboxilo terminal. El pliegue ICK presenta numerosas variaciones en la longitud de los bucles intercisteínicos, lo que da lugar a diferentes propiedades de las toxinas como ejemplifica la Figura 5 (Escoubas y col., 2004; Xiong, 2006; Saez y col., 2010).



**Figura 5.** Representación de listón de distintas toxinas ICK de tarántula. Puentes disulfuro en amarillo adaptado de Escoubas y col., 2004.

Puntualmente, la composición del veneno de *Poecilotheria regalis* ha sido caso de estudio, dados los síntomas provocados por su mordedura, lo que exacerba su importancia farmacológica. Análisis mediante electroforesis en gel de poliacrilamida (SDS-PAGE) revelaron que el veneno se compone de pequeños péptidos de entre 2 a 15 kDa (característicos de neurotoxinas) y de proteínas con pesos moleculares que varían entre 40 y 100 kDa como las hialuronidasas (García-Arredondo y col., 2015). Estas hialuronidasas se encuentran presentes en al menos dos isoformas con pesos moleculares de alrededor de 40 kDa y un punto isoeléctrico entre 6 y 8, valores que son similares al de la hialuronidasa de *Dugesiella hentzi*, la cual presenta su máxima actividad a una temperatura de 50° C, como las enzimas BmHYA1 presentes en el veneno del escorpión *Buthus martensi* y la hialuronidasa testicular bovina. Estas enzimas entran dentro de la clasificación de enzimas ácido activas con un pH óptimo de funcionamiento de 3-4 (Rodríguez-Ríos, 2017).

Adicionalmente, el veneno de *P. regalis* ha sido analizado mediante 'MALDI-TOF' revelando 34 picos en el espectro en un rango de 3.8 a 8.0 kDa. Un posterior análisis por RP-HPLC presentó 23 fracciones con un peso molecular promedio de 3.402 kDa, determinando en total 225 picos que corresponden al número de péptidos presentes en el extracto venenoso. El perfil cromatográfico mostró ciertas analogías con péptidos ya estudiados. Estos resultados, en complemento con los patrones de fragmentación de las fracciones, permiten atribuir funciones biológicas por porcentaje de homología. Algunas de las toxinas caracterizadas fueron Precursor de *Conotoxina Bu6*, *U1-Theraphotoxina-Pf2*, *U1-Theraphotoxina-Pf3*,  $\omega$ -*Theraphotoxina-Asp3*, *U26-theraphotoxina-Cg1a*, *U7-theraphotoxina-Pf1* y *U5-theraphotoxina-Pf3*. Es importante recalcar que existe una variación en los compuestos y su concentración presente en el veneno según el sexo, tamaño, edad entre otros factores ecológicos o genéticos (Díaz-Peña, 2019).

El cuadro clínico causado por la mordedura de *P. regalis* se desarrolla con el tiempo e incluye síntomas que van desde adormecimiento hasta calambres musculares severos, además de dolores en las extremidades, inflamación e hinchazón (García-Arredondo y col., 2024). Estudios de laboratorio reportan niveles elevados de creatina quinasa, lo que sugiere cierto daño muscular. En un reciente estudio realizado en modelos murinos, reportan que el veneno afecta la fusión de mioblastos e induce atrofia de miotubos, además de dañar el músculo tiroaritenosoideo y causar pérdida muscular (Richards y col., 2023). A pesar de no ser mortal, la mordedura de esta tarántula genera en el afectado, entumecimiento en extremidades, dolor e inflamación, en contraste con los síntomas producidos por mordeduras de otras especies arborícolas (Pérez-Miles, 2020). Aunado a esto, la ausencia de un antiveneno específico para el veneno de esta tarántula (Jegaraj y col., 2014), vuelve el estudio de las toxinas presentes en el veneno de la araña ornamental de la India de interés farmacológico.

### 1.3.1 Efecto del veneno de *P. regalis* sobre aorta

El estudio de los venenos secretados por terafósidos se puede abordar en función de la diana biológica que modula la toxina, lo que puede determinarse mediante

técnicas electrofisiológicas que esclarecen la actividad en canales iónicos dependientes de ligando. Algunas de estas toxinas modulan la función del sistema vascular mediante la activación de canales dependientes de voltajes como el  $K_v^+$ ,  $Na_v^+$  o el  $Ca_v^{2+}$  (Estrada y col., 2007), particularmente, el estudio de venenos de la subfamilia Poecilotheriinae ha revelado la capacidad de ciertas toxinas de modular los canales voltaje dependientes de calcio, como lo son los canales tipo L, lo que explicaría parte de sus efectos (Díaz-Peña y col., 2019).

El efecto vasodilatador característico de la mordedura de estas tarántulas involucra la activación de la vía del NO/GMPc en los vasos sanguíneos. En un estudio realizado con el veneno de *P. ornata*, se detectó la activación de la vía del Óxido nítrico por GMPc (de Jesús-López y col., 2023). En experimentos realizados en segmentos de aorta aislados de rata, se encontró que el veneno de la *P. regalis* produce un efecto vasodilatador dependiente de la concentración del veneno (Díaz-Peña y col., 2019). En años recientes se encontró que un inhibidor de nudo de cistina, presente en una subfracción cromatográfica del veneno, induce vasodilatación mediante la inhibición de los canales tipo L voltaje-dependientes de calcio (Díaz Peña y col., 2023).

### 1.3.2 Efecto del veneno de *P. regalis* en músculo liso intestinal

En estudios efectuados sobre el tejido aislado de íleon de rata, se encontró que el veneno de *P. regalis* produce un efecto inhibitorio de las contracciones espontáneas del tejido. Esta actividad biológica podría surgir como resultado del decremento en la entrada del calcio en las células, sin embargo, el mecanismo no ha sido determinado (Pescador-Tovar, 2024).

## II. Potencial terapéutico de los venenos de araña

En la química medicinal, es común el uso de venenos como fuente de nuevas moléculas que puedan generar candidatos a fármacos o ampliar las bibliotecas de compuestos en la búsqueda de análogos de los distintos metabolitos que generen una sintomatología determinada. Por ejemplo, las arañas han sido objeto de estudio por su alta especialización para secretar péptidos que actúan sobre blancos específicos a partir de concentraciones nanomolares, que incluso logran identificar a sus blancos biológicos entre diferentes isoformas (King, 2011; Cardoso y col., 2015).

El veneno de las arañas constituye un cóctel de compuestos que comprenden sales, pequeñas moléculas orgánicas, péptidos y una variedad de proteínas que abarca desde decenas hasta cientos de daltons. Gracias a su distribución cosmopolita y a su amplia variedad de especies en la dieta, esta diversidad de toxinas convierte a estas arañas en los depredadores venenosos más exitosos, lo que se traduce en una biblioteca de compuestos inmensa que ha sido perfeccionada por la evolución a través de la química combinatoria durante miles de años; a pesar de conocer ampliamente sus efectos farmacológicos, la caracterización de las moléculas responsables de dichos efectos, siguen siendo una amplia rama de estudio (Estrada y col., 2007; Saez y col., 2010).

Múltiples toxinas de distintas arañas se han utilizado en la búsqueda de analgésicos, aprovechando su capacidad como moduladores de distintos receptores asociados al dolor como los canales voltaje dependientes de sodio, canales iónicos sensibles al pH, canales TRPV o P2X. Algunas toxinas poseen potencial antiarrítmico por inhibir canales mecanosensibles MSCs, que están asociados al estiramiento de la cámara auricular, lo que resulta en la fibrilación auricular. Su capacidad de modular la vasodilatación los vuelve relevantes en la búsqueda de antihipertensivos o de fármacos usados para tratar la disfunción eréctil. La finalidad del veneno *per se* para cazar sus presas puede ser aprovechada en la creación de insecticidas que no representen un riesgo para el ser humano, o inclusive que sean específicos para determinadas especies. Finalmente, el poder citolítico de algunas toxinas les brinda potencial de ser nicho para antibióticos de nueva generación, debido a las

propiedades anfipáticas de algunos péptidos que permitieran la permeabilización de la membrana mediante distintos mecanismos (Saez y col., 2010).

El uso particular del veneno de tarántulas es quizá todavía más exiguo. El potencial del motivo responsable del nudo inhibidor de cistina ICK para generar péptidos con distintos potenciales farmacéuticos y dotar a las librerías con compuestos y andamios, sobre los cuales diseñar nuevos candidatos, es un campo poco explorado en la investigación de fármacos. Por ejemplo, las toxinas Ux-TRTX-Pc1a, extraídas del veneno de *Psalmopoeus cambridgei*, han mostrado tener actividad contra el estadio intraeritrocitario de *Plasmodium falciparum*, a pesar de no tener actividad hemolítica, fungicida o bactericida, lo que podría proveer de compuestos líderes en el desarrollo de nuevos antimaláricos. Además, se ha encontrado que neurotoxinas secretadas por distintas especies de tarántulas han mostrado actividad inhibitoria en el crecimiento de distintas líneas celulares en concentraciones del orden micromolar (Escoubas y col., 2004; Guo y col., 2023).

## 2. HIPÓTESIS

El veneno de *Poecilotheria regalis* inhibe las contracciones espontáneas del íleon aislado de rata, mediante un mecanismo que involucra la participación del calcio extracelular.

### 3. OBJETIVO

Determinar la importancia del calcio extracelular en el efecto del veneno de *Poecilotheria regalis* sobre las contracciones espontáneas de segmentos de íleon aislados de rata.

## 4. METODOLOGÍA

### V.1 Métodos

#### V.1.1 Animales en experimentación

En este estudio, se usaron cuatro ratas macho de la cepa Wistar con un peso de 250 a 300 g, las cuales fueron adquiridas en el Bioterio del Instituto de Neurobiología de la UNAM, campus Juriquilla, Querétaro. Los animales de experimentación se mantuvieron en un área exclusiva para el cuidado y alimentación de los animales ubicada en la planta baja del edificio 2 de la Facultad de Ciencias Químicas de la UAQ. El espacio fue acondicionado según la NOM-062- ZOO-1999, apartado 5.1, manteniendo a los animales en jaulas de acrílico (187 cm<sup>2</sup> por animal) con agua purificada y alimento *ad libitum* (alimento ABENE BDL-7100 para animales de experimentación en fase de mantenimiento), alternando la limpieza cada dos días. No se aplicó ningún tipo de dieta ni tratamiento en los animales de experimentación. Se indujo la muerte de los animales de experimentación mediante decapitación con guillotina, considerando que se trabajó con tejidos aislados (NOM-062-ZOO- 1999, apartado 9.5.3.3).

Los segmentos de íleon extraídos para el ensayo biológico se lavaron inmediatamente y fueron colocados en una cámara de baño orgánico para realizar las evaluaciones. Se emplearon repeticiones con cuatro ratas diferentes; gracias a la naturaleza del ensayo, fue posible realizar múltiples condiciones experimentales con una sola rata. De acuerdo con el apéndice A de la NOM-062-ZOO-1999, se causó a los animales de experimentación un grado de molestia categoría A. Finalmente, los residuos peligrosos biológico-infecciosos se trataron como lo indica la NOM-087-SSA-2002, manteniendo en congelación (-20°C) los restos en bolsas amarillas y los punzocortantes en contenedores rojos especiales. Los residuos químicos generados, se trataron según la NOM-005-STPS-1998.

### V.1.2 Recolección y obtención del veneno de arácnidos

El veneno fue extraído de especímenes hembra adultos de la tarántula *Poecilotheria regalis*, que fueron mantenidas en jaulas de acrílico de manera independiente en el Aracnario de la Facultad de Ciencias Naturales de la Universidad Autónoma de Querétaro (Número de registro INE/CITES/DGVS-CR-IN-0619-QRO/00). Los arácnidos recibieron agua (agua purificada *ad libitum*) y alimento (un grillo por semana); estando a cargo del personal del aracnario. No fue necesario el sacrificio para la extracción del veneno. La identificación y sexado de los especímenes fue realizado por el Biol. Luis Cuéllar Balleza, encargado del Aracnario. La extracción del veneno se realizó mediante la técnica estandarizada de obtención de veneno de tarántulas, la cual consiste en una estimulación eléctrica. El veneno fue liofilizado y almacenado en congelación a -70 °C.

### V.1.3 Cuantificación de proteína total en el veneno

La proteína total presente en el veneno fue determinada por espectrofotometría UV-Vis, mediante el método colorimétrico del ácido bicinconínico, utilizando una curva de calibración y empleando albúmina sérica bovina (BSA) como estándar de proteína BSA.

### V.1.4 Ensayo de íleon aislado de rata

El efecto del veneno sobre el tono del músculo liso vascular fue evaluado mediante el ensayo de íleon aislado de rata previamente estandarizado (Rojas y col., 2002). Para esto, se indujo la muerte de las ratas macho Wistar por decapitación, usando una guillotina como lo indica la NOM-062-ZOO-1999. Posteriormente, se extrajeron segmentos de íleon de alrededor de 1 cm que fueron colocados en solución fisiológica de Krebs-Henseleit de composición: 118 mM NaCl, 4.7 mM KCl, 2.5 mM CaCl<sub>2</sub>, 1.2 mM MgSO<sub>4</sub>, 1.2 mM KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 25 mM NaHCO<sub>3</sub> y 11 mM D- (+) glucosa, con gasificación constante de composición 95 % O<sub>2</sub> y 5 % CO<sub>2</sub> a una temperatura de 37°C.

Los tejidos extraídos se estabilizaron por 10 minutos a una tensión de 1 g, de manera que las contracciones espontáneas del tejido fueron medidas en el polígrafo Grass. Una vez finalizado el período de estabilización, se realizaron 3 lavados del tejido con solución de Krebs modificada de composición: 118 mM NaCl, 4.7 mM KCl, 2.5 mM EDTA, 1.2 mM MgSO<sub>4</sub>, 1.2 mM KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 25 mM NaHCO<sub>3</sub> y 11 mM D- (+) glucosa, para asegurar la ausencia del calcio Ca<sup>2+</sup> presente en el medio. El efecto del veneno fue evaluado mediante la adición de 50 µL de la dilución del veneno, teniendo una concentración final de 20 µg/ml. Posteriormente, se adicionaron 100 µL de una solución de CaCl<sub>2</sub> para obtener una concentración final de 10 mM. Se empleó verapamilo (1 x 10<sup>-3</sup> M), como sustancia de referencia, ya que es un bloqueador de canales de calcio tipo L.

#### V.1.5 Análisis estadístico

Los resultados fueron expresados como la media ± el error estándar de la media de cuatro repeticiones (n = 4). Las comparaciones entre grupos se realizaron mediante un análisis un ANOVA de una vía con un análisis *pos hoc* de Dunnett (p ≤ 0.05), empleando el programa estadístico Prism GraphPad versión 5.0.

#### V.2 Diseño experimental

Se utilizó un diseño experimental con grupos de tratamiento y control para comparar los resultados. Para esto, se emplearon ratas sanas macho de la cepa Wistar con un peso de 250 a 300 g. Se realizó una extracción de segmentos de íleon de aproximadamente 1 cm de longitud. Cada segmento de íleon de diferente rata se consideró una unidad experimental. Los segmentos de íleon se dividieron en grupos experimentales (n=4):

Grupo control negativo: Segmentos de íleon sin tratamiento, a los que se les agregó el vehículo de disolución de la muestra.

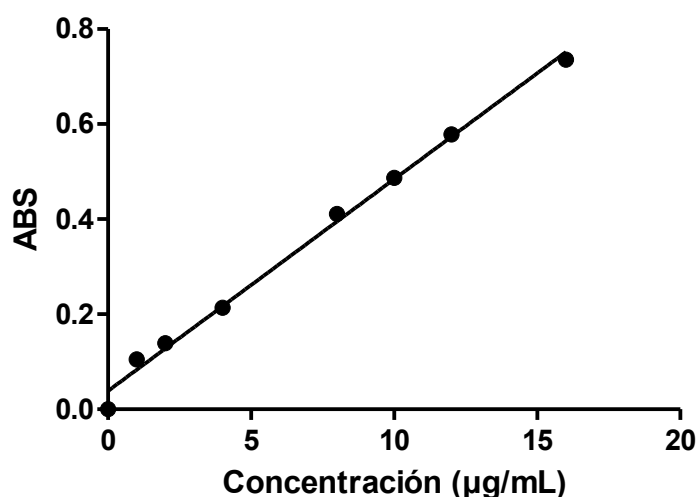
Grupo control positivo: Segmentos de íleon, a los que se les agregó una concentración de 10 mM de CaCl<sub>2</sub> en un medio libre de calcio.

Grupo experimental: Segmentos de íleon, a los que se les agregó una concentración de 20 µg de veneno/ml y posteriormente una concentración de 10 mM de CaCl<sub>2</sub> en un medio libre de calcio.

Grupo de referencia: Segmentos de íleon, a los que se les agregó una concentración de 1X10<sup>-3</sup> M de verapamilo y, posteriormente, 10 mM de CaCl<sub>2</sub> en un medio libre de calcio.

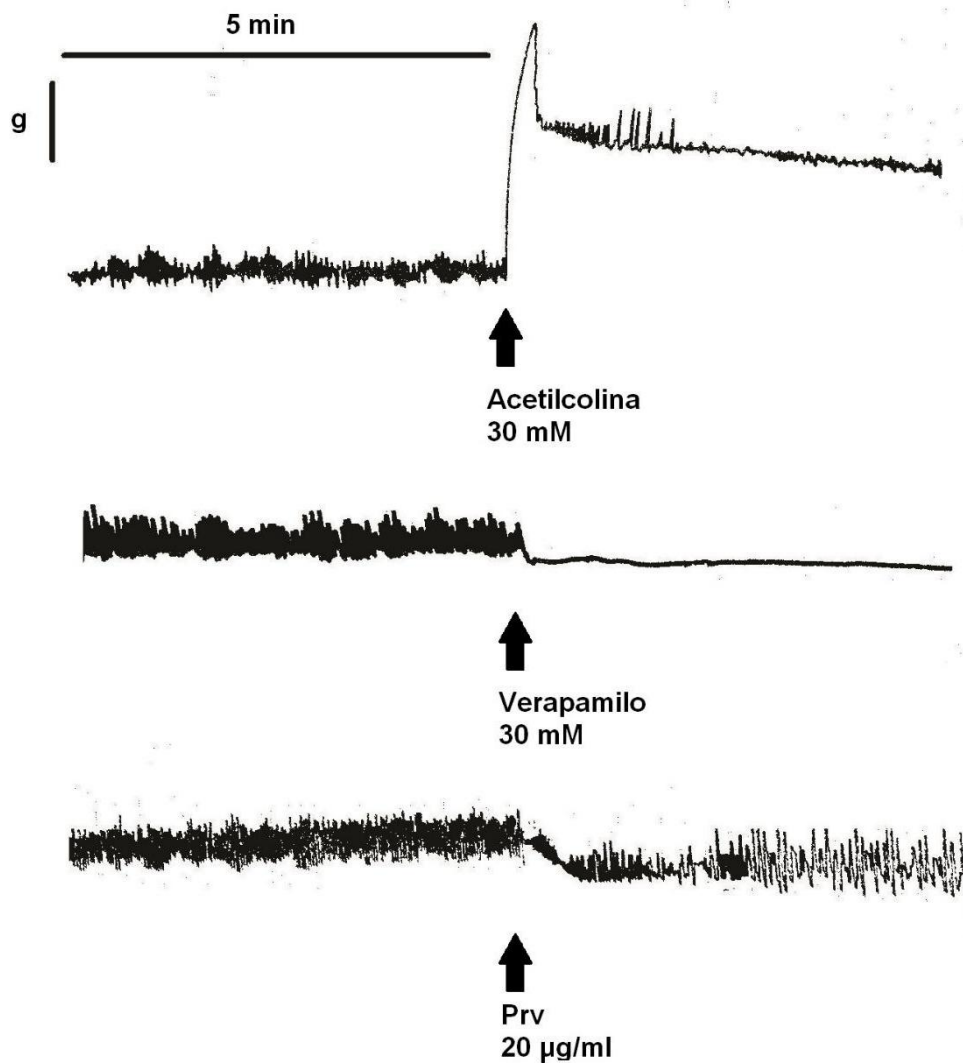
## 5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Después de la extracción del veneno, se cuantificó la concentración de proteína. Primero, el veneno de una extracción se disolvió en 500  $\mu$ l de agua grado HPLC y se tomaron 4  $\mu$ l del veneno diluido para la determinación de proteína, encontrándose que por cada extracción de veneno se obtuvieron 0.8 mg de proteína total. En la Figura 6, se muestra la curva control con albúmina sérica bovina para la determinación de proteína ( $R^2 = 0.928$ ).



**Figura 6.** Curva control con albúmina sérica bovina para la determinación de proteína por el método del ácido bicinconínico.

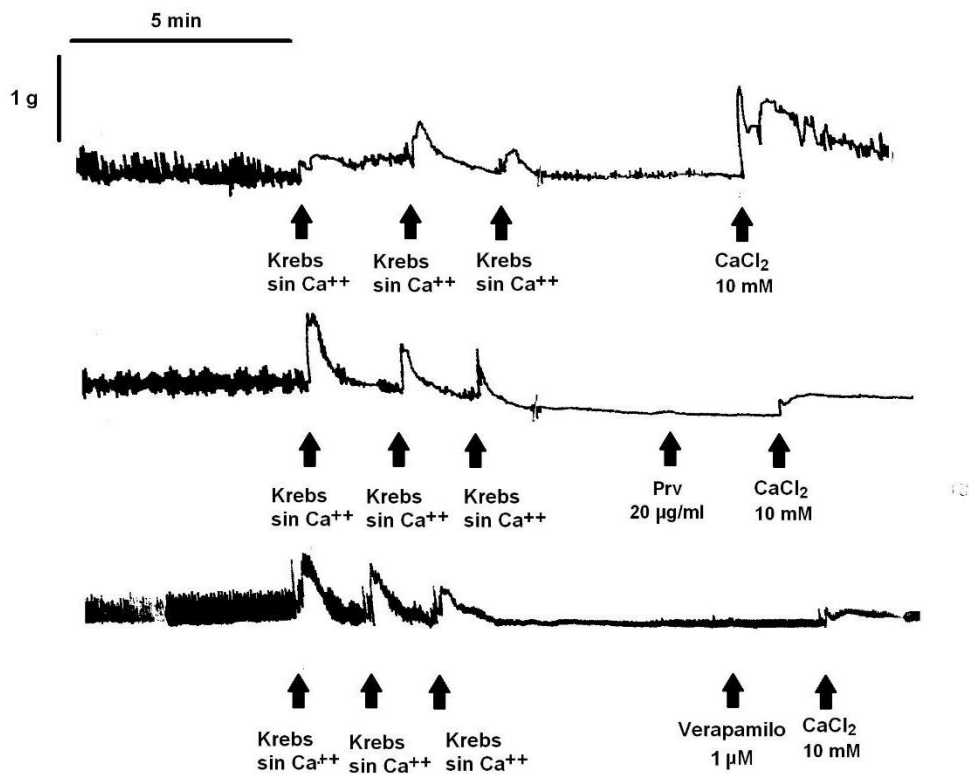
Una vez que se cuantificó la concentración de proteína del veneno de *P. regalis*, se evaluó su efecto sobre las contracciones espontáneas de segmentos de íleon aislado de rata a una concentración de 20  $\mu$ g/ml. A esta concentración, el veneno provocó una disminución del tono del músculo liso intestinal equivalente a 300 mg de fuerza. En la Figura 7, se muestra el efecto del veneno en comparación con la acetilcolina y verapamilo, que se usaron respectivamente como referencia de efecto estimulatorio e inhibitorio del tono del músculo liso intestinal.



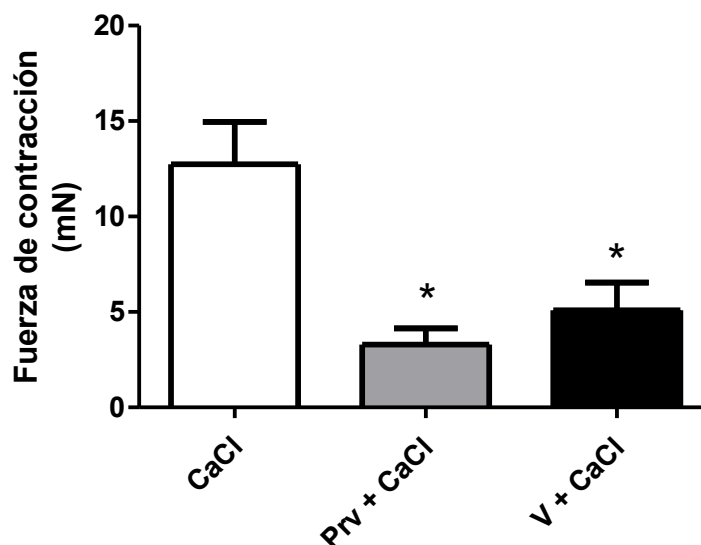
**Figura 7.** Efecto del veneno de *P. regalis* (Prv) sobre el tono del músculo liso intestinal en segmentos de íleon aislado de rata.

Con la finalidad de determinar la participación del calcio extracelular en el efecto del veneno de *P. regalis* sobre el tono del músculo liso intestinal, se agregó el veneno en las cámaras con los tejidos en un medio libre de calcio, posteriormente, se agregó cloruro de calcio a una concentración de 10 mM. La contracción observada mediante este experimento se comparó con la contracción inducida por la misma concentración

de cloruro de calcio en segmentos en solución de Krebs libre de calcio. Se realizó un experimento similar usando como control un bloqueador de canales de calcio dependientes de voltaje (verapamilo). Los resultados de estos experimentos indicaron que la contracción inducida por el cloruro de calcio sobre los segmentos de íleon, a la concentración de 10 mM, disminuye significativamente tanto en presencia del veneno de *P. regalis*, como en presencia de verapamilo. En la Figura 8 se muestran registros representativos de estos experimentos, mientras que en la Figura 9, se muestra la gráfica con la comparación estadística de dichos efectos.



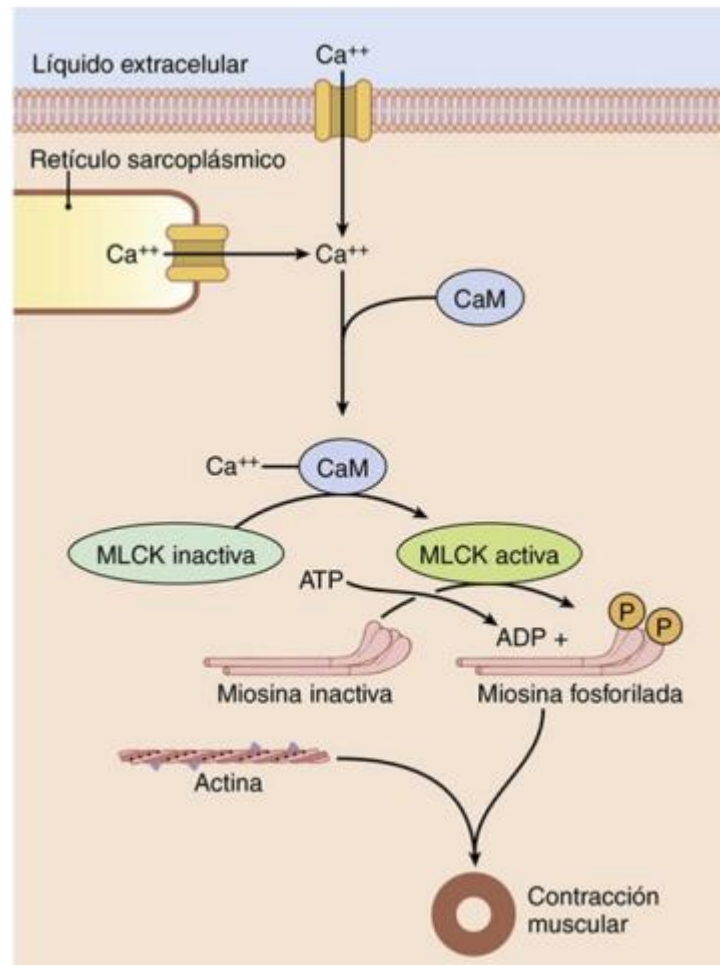
**Figura 8.** Efecto del veneno de *P. regalis* (Prv) y del verapamilo sobre la contracción inducida por cloruro de calcio en segmentos de íleon aislado de rata en un medio libre de calcio.



**Figura 9.** Efecto contráctil inducido por cloruro de calcio sobre los segmentos de íleon aislado de rata en un medio libre de calcio, en ausencia y presencia del veneno de *P. regalis* (Prv) o verapamilo. \*Muestra diferencias significativas mediante un ANOVA de una vía con un análisis *pos hoc* de Dunnett ( $p \leq 0.05$ ).

En comparación con la información que se tiene sobre los componentes de los venenos de tarántulas de otros géneros, se sabe relativamente poco sobre los componentes de los venenos de las tarántulas del género *Poecilotheria* y sus efectos farmacológicos. Se ha encontrado previamente que el veneno de *P. regalis* produce vasodilatación en segmentos de aorta aislada de rata. Entre los posibles mecanismos, se ha visto que el efecto vasodilatador depende, por una parte, del endotelio vascular, involucrando la vía del óxido nítrico-GMP cíclico (Díaz-Peña y col., 2019). Por otro lado, también se ha visto que parte del efecto vasodilatador se debe a un bloqueo de los canales de calcio dependientes de voltaje (Díaz-Peña y col., 2023). En otro estudio, se observaron resultados similares con el veneno de *P. ornata* (de Jesús-López y col., 2023), lo que sugiere que las especies de este género contienen diversos péptidos vasodilatadores, algunos de los cuales estarían ejerciendo su efecto al impedir la entrada de calcio a las células de músculo liso.

El calcio es uno de los principales segundos mensajeros que modulan la contracción muscular. En el caso del músculo liso intestinal, la contracción comienza después del aumento de la concentración de  $\text{Ca}^{++}$  intracelular, proveniente del líquido extracelular o del retículo sarcoplásmico en el interior de la célula. Estos iones se unen a la calmodulina. Este complejo activa la cinasa de cadena ligera de miosina, encargada de fosforilar las cadenas ligeras de las cabezas de miosina, lo que aumenta la actividad de la ATPasa. Por último, los puentes cruzados de miosina activa se deslizan a lo largo de la actina y crean una tensión muscular que contrae a la célula como se observa en la Figura 10 (Hall y col., 2021).



**Figura 10.** Esquematización del mecanismo de contracción y relajación del músculo liso (Hall y col., 2021).

En los experimentos realizados en este estudio, los lavados de los tejidos, realizados con la solución de Krebs libre de calcio, agotarían las reservas del ion en el retículo sarcoplasmáticos lo que eventualmente detiene la motilidad del músculo liso. Al agregar el veneno y posteriormente el cloruro de calcio, la captación del ion se ve reducida, *ergo* la fuerza de contracción disminuye significativamente, en contraste con el grupo control que presentó un aumento en la fuerza de contracción *ipso facto*. Este efecto es similar al producido por el verapamilo, conocido por antagonizar los canales de calcio voltaje dependientes en las células del músculo liso vascular y del músculo cardíaco (presentando una selectividad mayor por este último), produciendo un efecto vasodilatador mediante la reducción del ion en el citosol (Singh y col., 1978).

Como se ha mencionado previamente, los venenos de tarántula son considerados como fuentes importantes de toxinas peptídicas que modulan diversos tipos de canales iónicos, gran parte de los estudios se centran en toxinas que actúan sobre canales de sodio y de potasio (Escoubas y Rash, 2004; Estrada-Gomez y col, 2019). Sin embargo, algunos estudios han mostrado que los venenos de tarántula también contienen toxinas que modulan canales de calcio (Estrada-Gomez y col, 2019). Por ejemplo, en el veneno de la tarántula de China *Ornithoctonus huwena* se encontró la toxina peptídica huwentoxin-XVI, de 39 residuos de aminoácidos, que bloquea canales de calcio tipo N, presentes principalmente en sistema nervioso (Deng, y col, 2014). En el veneno de la tarántula de África *Pelinobius muticus*, comúnmente conocida como tarántula rey babuino, se encontró la toxina peptídica  $\omega$ -TRTX-Hg1a, de 39 residuos de aminoácidos, que actúa como inhibidor de canales de calcio dependientes de voltaje tipo CaV2.3, que están presentes principalmente en sistema nervioso central (Klint y col, 2014). La aplicación potencial de estas toxinas que actúan sobre canales de calcio presentes en sistema nervioso central es el estudio y diseño de nuevos tratamientos analgésicos. Por otra parte, también se tienen reportes de toxinas de tarántula que actúan sobre canales de calcio presentes en músculo liso vascular, en el veneno de la tarántula de Perú *Thrixopelma pruriens* se encontró la toxina peptídica ProTx-I que actúa inhibiendo canales de calcio tipo T

Cav3.2 (Ohkubo y col, 2010), en el veneno de la tarántula de Latinoamérica *Grammostola rosea* se aisló la toxina GTx-15, que inhibe canales de calcio dependientes de voltaje tipo Cav1.2, presentes en músculo liso vascular e intestinal (Ono y col., 2011). Estas toxinas pueden ser de gran importancia biológica, ya que podrían tener una potencial aplicación para el desarrollo de nuevas aplicaciones terapéuticas para el tratamiento de diversas afecciones como la hipertensión arterial, angina de pecho y arritmias cardíacas. En este estudio, se puede inferir que el veneno de *P. regalis* constituye una fuente potencial de nuevas toxinas bloqueadoras de canales de calcio, que podrían estar actuando principalmente sobre canales de calcio tipo L, que son los mayormente expresados en músculo liso vascular e intestinal (Ghosh y col, 2017).

## 6. CONCLUSIONES

Los resultados derivados del presente estudio muestran que el veneno de la tarántula *P. regalis* produce un efecto inhibitorio sobre las contracciones espontáneas de segmentos de íleon aislado de rata mediante un mecanismo que involucra la entrada de calcio a las células musculares. Este estudio constituye un primer paso para futuros estudios dirigidos a la purificación y caracterización de estas toxinas para determinar con mayor profundidad su posible mecanismo de acción. Entre las perspectivas a futuro, es necesario explorar si otras especies de tarántulas, de géneros diferentes, presentan este tipo de toxinas y establecer protocolos dirigidos a su purificación.

## 7. BIBLIOGRAFÍA

- Ahmed, N., Pinkham, M., Warrell, D.A. 2009. Symptom in search of a toxin: muscle spasms following bites by Old World tarantula spiders (*Lampropelma nigerrimum*, *Pterinochilus murinus*, *Poecilotheria regalis*) with review. Quarterly Journal of Medicine 102, 851-857.
- Alsultan, A., Brody, J., Hurst, N., Welch, S., Shirazi, M. 2023. Wessel's tiger ornamental tarantula bite envenomation: A case report and venom analysis. Toxicon 223, 107013.
- Andreev-Andrievskiy, A., Popova, A., Lagereva, E., Osipov, D., Berkut, A., Grishin, E. y Vassilevski, A. (2017) Pharmacological analysis of *Poecilotheria* spider venoms in mice provides clues for human treatment. Toxicon, 138, 59-67.
- de Jesus-López, E., Cuéllar-Balleza, L., Díaz-Peña, L.F., Luna-Vázquez, F.J., Ibarra-Alvarado, C., García-Arredondo, J.A., 2023. Vasodilator activity of *Poecilotheria ornata* venom involves activation of the NO/cGMP pathway and inhibition of calcium influx to vascular smooth muscle cells. Toxicon X 19, 100159.
- Cipola, N., Chavari, J., Zequi, J., & Brescovit, A. (2019). Araneae (Arachnida). Fauna e flora do Parque Estadual Mata São Francisco: norte do Paraná. EDUEL. 63-104.
- Díaz-Peña, L.F., Torres-Ortiz, D., Aguilar, M.B., Enoch, L., Lazcano-Pérez, F., Arreguín-Espinosa, R., Hernández-Cruz, A., Ibarra-Alvarado, C., García-Arredondo, A. 2023. A subfraction obtained from the venom of the tarantula *Poecilotheria regalis* contains inhibitor cystine knot peptides and induces relaxation of rat aorta by inhibiting L-type voltage-gated calcium channels. Toxicon X, 18, 100151.
- Deng, M., Luo, X., Xiao, Y., Sun, Z., Jiang, L., Liu, Z., Zeng, X., Chen, H., Tang, J., Zeng, W., & Songping Liang (2014). Huwentoxin-XVI, an analgesic, highly reversible mammalian N-type calcium channel antagonist from Chinese tarantula *Ornithoctonus huwena*. Neuropharmacology, 79, 657–667. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2014.01.017>
- Díaz-Peña, L.F., Ramírez, R., Cuéllar-Balleza, L., Aguilar, M.B., Lazcano-Pérez, F., Arreguín-Espinosa, R., Ibarra-Alvarado, C., García-Arredondo, A. 2019. Rat aorta

relaxation induced by the venom of *Poecilotheria regalis* involves the activation of the NO/cGMP pathway. *Toxicon* 163:12-18. DOI: 10.1016/j.toxicon.2019.03.010.

Dinamithra, N.P., Sivansuthan, S., Johnson, P., Nishshanka, J.G.P. 2013. Clinical presentation and outcome of Sri-Lankan ornamental tarantula *Poecilotheria fasciata* spider bite: a case report. *Anuradhapura Medical Journal* 7(1), 10-12.

Escoubas, P., Rash, L., 2004. Tarantulas: eight-legged pharmacists and combinatorial chemists. *Toxicon* 43, 555-574.

Estrada, G., Villegas, E., & Corzo, G. (2007). Spider venoms: a rich source of acylpolyamines and peptides as new leads for CNS drugs. *Natural Product Reports*, 24(1), 145-161.

Estrada-Gomez, S., Cardoso, F. C., Vargas-Muñoz, L. J., Quintana-Castillo, J. C., Arenas Gómez, C. M., Pineda, S. S., & Saldarriaga-Cordoba, M. M. (2019). Venomic, Transcriptomic, and Bioactivity Analyses of Pamphobeteus verdolaga Venom Reveal Complex Disulfide-Rich Peptides That Modulate Calcium Channels. *Toxins*, 11(9), 496. <https://doi.org/10.3390/toxins11090496>

Estrada-Gomez, S., Muñoz, L. J., Lanchero, P., & Latorre, C. S. (2015). Partial Characterization of Venom from the Colombian Spider Phoneutria Boliviensis (Aranae:Ctenidae). *Toxins*, 7(8), 2872–2887. <https://doi.org/10.3390/toxins7082872>

Francke, O. F. 2013. Biodiversidad de Arthropoda (Chelicerata: Arachnida ex Acari) en México. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 85, 408-418. <https://doi.org/10.7550/rmb.31914>

Fuchs, J., von Dechend, M., Mordasini, R., Ceschi, A., Nentwig, W. 2014. A verified spider bite and a review of the literature confirm Indian ornamental tree spiders (*Poecilotheria* species) as underestimated theraphosids of medical importance. *Toxicon* 77:73-77.

García-Arredondo, A., Rodríguez-Ríos, L., Díaz-Peña, L.F., Vega-Ángeles, R. 2015. Pharmacological characterization of venoms from three theraphosid spiders: *Poecilotheria regalis*, *Ceratogyrus darlingi* and *Brachypelma epicureanum*. *Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases* 21: 15.

García-Arredondo, A., Mosqueda, J., Cuéllar-Balleza, L., Sánchez-Morales, F. P., Acosta-Buitrón, A., Pescador-Tovar, D.L., & Mohan, A. (2024). Envenomation by the

Indian ornamental tarantula (*Poecilotheria regalis*): A case report on treatment with *Latrodectus mactans* antivenom. *Toxicon*, 247, 107842. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2024.107842>

Ghosh D, Syed AU, Prada MP, Nystoriak MA, Santana LF, Nieves-Cintrón M, Navedo MF. Calcium Channels in Vascular Smooth Muscle. *Adv Pharmacol*. 2017;78:49-87. doi: 10.1016/bs.apha.2016.08.002. Epub 2016 Oct 14. PMID: 28212803; PMCID: PMC5439506.

Guo, R., Guo, G., Wang, A., Xu, G., Lai, R., & Jin, H. (2023). Spider-Venom Peptides: Structure, Bioactivity, Strategy, and Research Applications. *Molecules*, 29(1), 35. <https://doi.org/10.3390/molecules29010035>

Hall, J. E., & Guyton, A. C. (2021). Excitación y contracción del músculo liso. En *Tratado de Fisiología Médica* (13.<sup>a</sup> ed., pp. 259-273). Elsevier.

Hernández-Sotelo, A. (2022) Diversidad de *Mygalomorphae* (*Arachnida:Araneae*) en la selva seca de Morelos, México. [Tesis de Licenciatura para obtener el grado de Licenciado en Biología]. Universidad Autónoma del Estado de Morelos.

ITES (Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora) (2019) consideration of proposals for amendment of appendices i and ii. Eighteenth meeting of the Conference of the Parties Colombo (Sri Lanka). [en línea] Disponible en: <https://cites.org/sites/default/files/eng/cop/18/prop/060319/E-CoP18-Prop-46.pdf> [Consulta: 10 de octubre de 2024].

Jegaraj K., Saurabh R., Rakesh P. (2014). Spider bite from South India. *Postgraduate Medical Journal* 60:216–217. doi: 10.4103/0022-3859.132377

Kaderka, R., Bulantová, J., Heneberg, P., & Řezáč, M. (2019). Urticating setae of tarantulas (*Araneae: Theraphosidae*): Morphology, revision of typology and terminology and implications for taxonomy. *PLoS ONE*, 14(11), e0224384. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0224384>

King, G. F., Gentz, M. C., Escoubas, P., & Nicholson, G. M. (2008). A rational nomenclature for naming peptide toxins from spiders and other venomous animals. *Toxicon: Official journal of the International Society on Toxinology*, 52(2), 264–276. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2008.05.020>

- King, G.F. (2011). Venoms as a platform for human drugs: translating toxins into therapeutics. *Expert Opinion on Biological Therapy*. 11, 1469–1484. doi:10.1517/14712598.2011.621940
- Klint, J. K., Berecki, G., Durek, T., Mobli, M., Knapp, O., King, G. F., Adams, D. J., Alewood, P. F., & Rash, L. D. (2014). Isolation, synthesis and characterization of  $\omega$ -TRTX-Cc1a, a novel tarantula venom peptide that selectively targets L-type Cav channels. *Biochemical pharmacology*, 89(2), 276–286. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2014.02.008>
- Martínez-Martínez, C., Benavides, L., & Villalba, O., & Franco, T. (2015). ARÁCNIDOS: UN MUNDO EN OCHO PATAS. 10.13140/RG.2.2.12412.90241. Infozoa Boletín de zoología, vol. 8. University of Magdalena.
- Meyer, P. (abril 2016). The Poecilotheria spp. Leg Pattern Poster Series. Poecitarium. [en línea] Disponible en: <https://mygale.de/en/the-poecilotheria-spp-leg-pattern-poster-series/> [Consulta: 20 de noviembre del 2025]
- Nanayakkara, R. P., Kirk, P. J., Dayananda, S. J., Ganehiarachchi, G. A. S. M., Vishvanath, N., & Kusuminda, T. (2012). A new species of tiger spider, genus Poecilotheria, from northern Sri Lanka.
- Nanayakkara, R. P., Ganehiarachchi, G. M., Vishvanath, N., & Kusuminda, T. G. T. (2015). Discovery of the Critically Endangered Tarantula Species of the Genus Poecilotheria (Araneae: Theraphosidae), Poecilotheria hanumavilasumica, From Sri Lanka. *Journal Of Asia-Pacific Biodiversity*, 8(1), 1-6. <https://doi.org/10.1016/j.japb.2015.01.002>
- Nelsen, David R., Zia Nisani, Allen M. Cooper, Gerad A. Fox, Eric C.K. Gren, Aaron G. Corbit, and William K. Hayes. 2014. “Poisons, Toxungens, and Venoms: Redefining and Classifying Toxic Biological Secretions and the Organisms That Employ Them.” *Biological Reviews* 89 (2): 450–65.
- Ohkubo, T., Yamazaki, J., & Kitamura, K. (2010). Tarantula toxin ProTx-I differentiates between human T-type voltage-gated Ca<sup>2+</sup> Channels Cav3.1 and Cav3.2. *Journal of pharmacological sciences*, 112(4), 452–458. <https://doi.org/10.1254/jphs.09356fp>

Ono, S., Kimura, T., & Kubo, T. (2011). Characterization of voltage-dependent calcium channel blocking peptides from the venom of the tarantula *Grammostola rosea*. *Toxicon : official journal of the International Society on Toxinology*, 58(3), 265–276. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2011.06.006>

Paredes Ayala, R.L. (2024). Evaluación de los efectos de los extractos de *Ipomoea murucoides* Roem. & Schult. sobre el tono del músculo liso arterial e intestinal. [Tesis de licenciatura para obtener el grado de Químico Farmacéutico Biólogo]. Universidad Autónoma de Querétaro.

Pescador Tovar, D.L. (2024) Evaluación de la capacidad de los extractos de las hojas de *Ipomoea murucoides* Roem. & Schult. para reducir los efectos farmacológicos del veneno de *Poecilotheria regalis* Pocock. [Tesis de maestría para obtener el grado de Maestría en Ciencias Químico Biológicas]. Universidad Autónoma de Querétaro.

Pérez-Miles, F. & Perafan, C. (2017). Behavior and ecology of Mygalomophae. Behavior and ecology of spiders. Springer, Cham. Pp. 29-55

Pérez-Miles, F. (2020). New World Tarantulas: Taxonomy, Biogeography and Evolutionary Biology of Theraphosidae. Springer Nature.

Ramesh, R., Kanagasingam, A., Anushanth, U., Gunasinghe A., Suganthan, N. 2023. A case report on generalized muscle spasms after ornamental tarantula bites that responded well to intravenous calcium gluconate treatment. *Cureus* 15(8):e43074.

Rao, K. T., Raju, M. P., Krishna, I. S. R., Javed, S. M. M., Siliwal, M., & Srinivasulu, C. (2004). Record of *Poecilotheria regalis* Pocock, 1899 from Nallamala Hills, Eastern Ghats, Andhra Pradesh. *ZOOSPRINT JOURNAL*, 19(10), 1668-1668.

Richards, N. J., Alqallaf, A., Mitchell, R. D., Parnell, A., Haidar, H. B., Almeida, J. R., Williams, J., Vijayakumar, P., Balogun, A., Matsakas, A., Trim, S. A., Patel, K., & Vaiyapuri, S. (2023). Indian Ornamental Tarantula (*Poecilotheria regalis*) Venom Affects Myoblast Function and Causes Skeletal Muscle Damage. *Cells*, 12(16), 2074. <https://doi.org/10.3390/cells12162074>

Rodríguez-Ríos, L.H. 2016 Caracterización bioquímica de hialuronidasas presentes en los venenos de tarántulas del género *Poecilotheria*. [Tesis de maestría para obtener el grado de Maestría en Ciencias Químico Biológicas]. Universidad Autónoma de Querétaro.

- Rodriguez-Rios, L., Diaz-Peña, L., Lazcano-Perez, F., Arreguin-Espinosa, R., Rojas-Molina, A., Garcia-Arredondo, A., 2017. Hyaluronidase-like enzymes are a frequent component of venoms from theraphosid spiders. *Toxicon* 136, 34-43.
- Saez, N. J., Senff, S., Jensen, J. E., Er, S. Y., Herzig, V., Rash, L. D., & King, G. F. (2010). Spider-venom peptides as therapeutics. *Toxins*, 2(12), 2851–2871. <https://doi.org/10.3390/toxins2122851>
- Saez, N. J., Senff, S., Jensen, J. E., Er, S. Y., Herzig, V., Rash, L. D., & King, G. F. (2010). Spider-venom peptides as therapeutics. *Toxins*, 2(12), 2851-2871.
- Samarawickrama, V. A. M. P. K., Janananda, M. D. B. G., Ranawana, K. B., & Smith, A. 2005. Study of the distribution of the genus *Poecilotheria* of the family Theraphosidae in Sri Lanka. *Ceylone Journal of Science*, 34, 75-86.
- Singh, B. N., Ellrodt, G., & Peter, C. T. (1978). Verapamil: a review of its pharmacological properties and therapeutic use. *Drugs*, 15(3), 169-197.
- Witharana., E.W.R.A., Karunaratne, W.A.I.P., Wijesinghe, S.K.J., Kadahetti, S.C.L. 2018. Spider bite in Sri Lanka: Two case reports of envenomation by two tarantula species. *Sri Lanka Journal of Medicine* 27(1):71-73.
- World Spider Catalog (2025). World Spider Catalog. Version 26. Natural History Museum Bern, online at <http://wsc.nmbe.ch>, revisado el 30/04/2025. doi: 10.24436/2
- Xiong, J. (2006). Protein Motifs and Domain Prediction. In *Essential Bioinformatics* (pp. 85–94). chapter, Cambridge: Cambridge University Press.