



UNIVERSIDAD DE ORIENTE
NÚCLEO DE ANZOÁTEGUI
ESCUELA DE CIENCIAS DE LA SALUD
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FISIOLÓGICAS
CENTRO DE INVESTIGACIONES EN CIENCIAS DE LA SALUD

**CAMBIOS HISTOPATOLÓGICOS AGUDOS CAUSADOS POR EL VENENO
DE *Tityus nororientalis* (SCORPIONES, BUTHIDAE) EN MIOCARDIO
DE RATONES NMRI, BALBc Y C57BL/6**

Trabajo de Grado presentado por:

Albornoz Bermúdez, Emir Javier

Cedeño Parao, Olga Rebeca

Pereira Rivera, María Alejandra

Como requisito parcial para optar al Título de **Médico Cirujano**

Barcelona, abril de 2009



UNIVERSIDAD DE ORIENTE
NÚCLEO DE ANZOÁTEGUI
ESCUELA DE CIENCIAS DE LA SALUD
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FISIOLÓGICAS
CENTRO DE INVESTIGACIONES EN CIENCIAS DE LA SALUD

**CAMBIOS HISTOPATOLÓGICOS AGUDOS CAUSADOS POR EL VENENO
DE *Tityus nororientalis* (SCORPIONES, BUTHIDAE) EN MIOCARDIO
DE RATONES NMRI, BALBc Y C57BL/6**

Asesores

María Josefina Moreno de Marval

Leonardo De Sousa

Como requisito parcial para optar al Título de **Médico Cirujano**

Barcelona, abril de 2009



UNIVERSIDAD DE ORIENTE
NÚCLEO DE ANZOÁTEGUI
ESCUELA DE CIENCIAS DE LA SALUD
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FISIOLÓGICAS
CENTRO DE INVESTIGACIONES EN CIENCIAS DE LA SALUD

**CAMBIOS HISTOPATOLÓGICOS AGUDOS CAUSADOS POR EL VENENO
DE *Tityus nororientalis* (SCORPIONES, BUTHIDAE) EN MIOCARDIO
DE RATONES NMRI, BALBc Y C57BL/6**

Jurados

Dr. Kiriakos Berdou, Demetrio

Dr. Flautes, Miguel

Como requisito parcial para optar al Título de **Médico Cirujano**

Barcelona, abril de 2009

DEDICATORIA

A Dios y a la Virgen Del Valle, por ser mis guías y fuente principal en mi existencia.

A mis padres, Eudys y Sabas, por ser piedras fundamentales, con todos sus esfuerzos, permitiéndome alcanzar mis sueños.

A mis abuelos, especial a mi abuela, “mamaíta”, por permitirme ser la persona que soy gracias a su cariño, crianza y formación.

A todos mis tíos y tías, por confiar en mí y siempre tener su apoyo.

A mis hermanos, especial a Eudimar y Eudys por ser incondicionales.

A mis primos y primas, por estar siempre a mi lado como unos hermanos.

A mis amigas y compañeras de tesis, María Alejandra y Rebeca, por permitirme la dicha de trabajar con ellas.

A todos mis amigos y compañeros, por ser de gran ayuda y por permitirme haber compartido con todos ellos.

Emir Javier Albornoz Bermúdez

DEDICATORIA

A Dios Todopoderoso y Creador de todas las cosas, quien nos da sabiduría e inteligencia y provee todo lo necesario para el alcance de los sueños.

A mi madre Olga, por brindarme su apoyo incondicional y por su deseo verme triunfar, lo que es estímulo para mí, para avanzar. A mi padre Carlos, aunque ya no estás a mi lado, siempre has sido el mejor ejemplo a seguir, el mejor consejo que he podido escuchar. Los amo...

A mi amado esposo, Freddy, por ser quién eres y formar parte de mí, gracias por tu apoyo, cariño y comprensión, que siempre estás dispuesto a brindarme en todo momento.

A mis hermanos, Carla, Ludy y Daniel, por estar presentes en mi vida y ayudarme de alguna u otra manera en la realización de este logro.

A mi tío Benito Cedeño, su ayuda espiritual, moral y económica, fue un impulso para el alcance de esta meta.

A la Dra. María Josefina Moreno de Marval y al Dr. Leonardo De Sousa por ser tan excelentes asesores.

A todos mis amigos y compañeros de clase, porque mutuamente siempre estamos dispuestos a darnos una palabra de aliento; en especial Angelly, Wilfredo, Fernanda, Nataly y a mis compañeros de tesis María Alejandra y Emir.

A todas las personas han colaborado, para el logro de esta meta.

Todo lo puedo en Cristo que me fortalece

Filipenses 4: 13

Olga Rebeca Cedeño Parao

DEDICATORIA

A Dios, gracias a Él he logrado llegar hasta donde estoy ahora.

A mis padres, por ayudarme a superar cada obstáculo que se me fue presentando en el camino y apoyarme durante toda la carrera.

A mis amigos, por estar allí en todos los momentos importantes y estimularme a seguir.

María Alejandra Pereira Rivera

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad de Oriente y Escuela de Ciencias de la Salud del Núcleo Anzoátegui por brindarnos la oportunidad de cursar esta carrera y así poder cumplir uno de nuestros más anhelados sueños.

Al Centro de Investigación en Ciencias de la Salud (CICS), Escuela de Ciencias de la Salud, Núcleo Anzoátegui, Universidad de Oriente y a su coordinadora la Prof. Alicia Jorquera.

Al Fondo Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación (FONACIT) por el apoyo económico al proyecto de Investigación en Red N° 2007000672: PRODUCCIÓN DE ANTIVENENOS (Coordinador General Dr. Prudencio Chacón, Instituto de Estudios Avanzados, Caracas): Subproyecto 1: “CARACTERIZACIÓN EPIDEMIOLÓGICA DE LOS ENVENENAMIENTOS OFÍDICOS Y ESCORPIÓNICO EN VENEZUELA, CON TAXONOMÍA DE LAS ESPECIES ASOCIADAS Y BANCOS DE VENENOS (Investigador-Coordinador Dr. Leonardo De Sousa, CICS, UDO, Núcleo de Anzoátegui) y Subproyecto 2: “BIOENSAYOS PARA EL ESTUDIO DE LA DIVERSIDAD DE TOXINAS DE LA FAUNA VENENOSA DEL PAÍS” (Investigador-Coordinador Dr. Adolfo Borges, Instituto de Medicina Experimental, Facultad de Medicina, UCV, Caracas) de los cuales este trabajo forma parte.

A nuestra asesora Dra. María Josefina Moreno de Marval, por haberse involucrado profundamente en la realización de este trabajo.

A nuestro asesor Dr. Leonardo De Sousa por compartir con nosotros sus conocimientos y por dedicarnos muchas de sus valiosas y ocupadas horas, en la realización de este trabajo.

Al Dr. Demetrio Kiriakos por aportar su granito de arena.

Los Alumnos

ÍNDICE

DEDICATORIA	iv
AGRADECIMIENTOS	ix
ÍNDICE	xi
LISTA DE FIGURAS	xiii
RESUMEN.....	xvii
INTRODUCCIÓN	19
CAPITULO I: EL PROBLEMA.....	21
1.1 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	21
1.2 OBJETIVOS	22
1.2.1 Objetivos Generales	22
1.2.2 Objetivos Específicos.....	22
1.3 JUSTIFICACIÓN	23
CAPITULO II: MARCO TEORICO	25
2.1 Antecedentes históricos.....	25
2.2 Taxonomía y Epidemiología.....	26
2.3 Características del veneno.....	28
2.4 Manifestaciones clínicas	29
2.5 Histopatología	30
CAPITULO III: MARCO METODOLOGICO	32
3.1 Fuente del veneno de escorpión	32
3.2 Extracción y purificación parcial del veneno.....	32
3.3 Determinación de la concentración de proteínas	33
3.4 Designación de una DL ₅₀ como dosis controlada del veneno de <i>T. nororientalis</i>	33
3.5 Evaluación de los signos de toxicidad aguda experimental y su curso temporal de aparición	34

3.6 Descripción de los cambios histopatológicos agudos en corazón de ratones NMRI, BALBc y C57BL/6 causados por la inyección intraperitoneal del veneno de <i>Tityus nororientalis</i>	37
CAPITULO IV: ANALISIS Y PRESENTACION DE RESULTADOS	39
4.1 Curso temporal de toxicidad aguda experimental	39
4.2 Hallazgos histopatológicos	44
4.3 Descripción de los cambios histopatológicos causados por el veneno de <i>T. nororientalis</i> en tejido cardiaco del ratón NMRI.....	50
4.4 Descripción de los cambios histopatológicos causados por el veneno de <i>T. nororientalis</i> en tejido cardiaco de un ratón BALBc	55
4.5 Descripción de los cambios histopatológicos, causados por el veneno de <i>T. nororientalis</i> , en tejido cardiaco de un ratón C57BL/6.....	60
4.6 DISCUSION	66
4.6.1 Significación de <i>T. nororientalis</i> como especie de importancia médica en el Nororiente de Venezuela	66
4.6.2 Utilidad del modelo murino para la evaluación del efecto del veneno de escorpiones de importancia médica en Venezuela	68
4.6.3 Cambios histopatológicos encontrados en corazón de ratones hembra de las cepas NMRI, BALBc y C57BL/6.....	69
4.6.4 Alcances de los resultados y su contribución a la elaboración del mapa de letalidad de la escorpiofauna venezolana de importancia médica.....	71
CAPITULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	72
5.1 CONCLUSIONES	72
5.2 RECOMENDACIONES.....	¡Error! Marcador no definido.
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	74
HOJA DE METADATOS PARA TESIS Y TRABAJOS DE ASCENSO	1

LISTA DE FIGURAS

- 1 DETERMINACIÓN DE LA DOSIS LETAL CINCUENTA (DL_{50}) DEL VENENO DE *Tityus nororientalis* POR VIP EN RATONES DE LA CEPA NMRI. 12
- 2 DETERMINACIÓN DE LA DOSIS LETAL CINCUENTA (DL_{50}) DEL VENENO DE *Tityus nororientalis* POR VIP EN RATONES DE LA CEPA BALBc. 13
- 3 DETERMINACIÓN DE LA DOSIS LETAL CINCUENTA (DL_{50}) DEL VENENO DE *Tityus nororientalis* POR VIP EN RATONES DE LA CEPA C57BL/6. 14
- 4 COMPARACIÓN DEL CURSO TEMPORAL DE APARICIÓN DE LOS SIGNOS DE TOXICIDAD AGUDA EXPERIMENTAL INDUCIDOS POR EL VENENO DE *Tityus nororientalis* ADMINISTRADO POR VIP EN RATONES DE LAS CEPAS NMRI, BALBc Y C57BL/6. 19
- 5 COMPARACIÓN DE UN RATÓN C57BL/6 CONTROL CON UNO SOBREVIVIENTE INYECTADO, POR VIP, CON EL VENENO DE *Tityus tenuicauda* MOSTRANDO ALGUNOS SIGNOS DE TOXICIDAD AGUDA. 20
- 6 RATÓN C57BL/6 SOBREVIVIENTE INYECTADO POR VIP CON EL VENENO DE *Tityus nororientalis* MOSTRANDO LA

	SECUENCIA DE PRESENTACIÓN DEL SIGNO DE STRAUB.	21
7	RATÓN HEMBRA, NMRI, INYECTADA POR VIP CON EL VENENO DE <i>Tityus nororientalis</i> MOSTRANDO ALGUNOS SIGNOS DE TOXICIDAD AGUDA.	22
8	SECCIÓN PANORÁMICA DE TEJIDO CARDÍACO CORRESPONDIENTE A UN RATÓN CONTROL DE LA CEPA NMRI.	23
9	SECCIÓN DE TEJIDO CARDÍACO CORRESPONDIENTE A UN RATÓN CONTROL DE LA CEPA NMRI.	24
10	SECCIÓN DE TEJIDO CARDÍACO CORRESPONDIENTE A UN RATÓN CONTROL DE LA CEPA BALBc.	25
11	SECCIÓN DE TEJIDO CARDÍACO CORRESPONDIENTE A UN RATÓN CONTROL DE LA CEPA BALBc.	26
12	SECCIÓN DE TEJIDO CARDÍACO CORRESPONDIENTE A UN RATÓN CONTROL DE LA CEPA C57BL/6.	27
13	SECCIÓN DE UNA PEQUEÑA ARTERIA OBSERVADA EN UN RATÓN CONTROL DE LA CEPA C57BL/6	28
14	SECCIÓN DE TEJIDO CARDÍACO DE RATÓN NMRI INYECTADO CON VENENO DE <i>Tityus nororientalis</i> .	30

15	SECCIÓN DE TEJIDO CARDÍACO DE RATÓN NMRI INYECTADO CON VENENO DE <i>Tityus nororientalis</i> .	31
16	SECCIÓN DE TEJIDO CARDÍACO DE RATÓN NMRI, INYECTADO CON VENENO DE <i>Tityus nororientalis</i> , MOSTRANDO UN VASO SANGUÍNEO.	32
17	SECCIÓN DE DE TEJIDO CARDÍACO MOSTRANDO LAS FIBRAS CORTADAS TRANSVERSALMENTE DE RATÓN NMRI INYECTADO CON VENENO DE <i>Tityus nororientalis</i> .	33
18	PANORÁMICA DE TEJIDO CARDÍACO DE RATÓN BALBc INYECTADO CON VENENO DE <i>Tityus nororientalis</i> .	35
19	SECCIÓN DE TEJIDO CARDÍACO DE RATÓN BALBc INYECTADO CON VENENO DE <i>Tityus nororientalis</i> .	36
20	SECCIÓN DE TEJIDO CARDÍACO DE RATÓN BALBc INYECTADO CON VENENO DE <i>Tityus nororientalis</i> .	37
21	SECCIÓN DE TEJIDO CARDÍACO DE RATÓN BALBc INYECTADO CON VENENO DE <i>Tityus nororientalis</i>	38
22	PANORÁMICA DE TEJIDO CARDÍACO DE UN RATÓN C57BL/6 INYECTADO CON VENENO DE <i>Tityus nororientalis</i> .	40
23	SECCIÓN DE TEJIDO CARDÍACO DE UN RATÓN C57BL/6 INYECTADO CON VENENO DE <i>Tityus nororientalis</i> .	41

- 24 SECCIÓN DE TEJIDO CARDÍACO DE UN RATÓN C57BL/6
INYECTADO CON VENENO DE *Tityus nororientalis*. 42
- 25 SECCIÓN DE TEJIDO CARDÍACO DE UN RATÓN C57BL/6
INYECTADO CON VENENO DE *Tityus nororientalis*. 43
- 26 SEGMENTO DE LA PARED DE UNA PEQUEÑA ARTERIA EN
TEJIDO CARDIACO DE UN RATÓN C57BL/6, INYECTADO CON 44
VENENO DE *Tityus nororientalis*.
- 27 VISTA DE UNA ARTERIA OBSERVADA EN TEJIDO CARDIACO
DE UN C57BL/6, INYECTADO CON VENENO DE *Tityus* 45
nororientalis.

RESUMEN

Luego de la exposición, durante sesenta minutos, al tratamiento conformado por una DL_{50} del veneno de *Tityus nororientalis*, como dosis controlada, en ratones hembra de las cepas de NMRI, BALBc y C57BL/6, se obtuvo una frecuencia de 50% ($n = 2$) de sobrevivencia, para cada una de las cepas evaluadas. El curso temporal de aparición de los signos de toxicidad aguda experimental inducida por el veneno en todos los casos se inició con hiperactividad seguida de sialorrea escasa y posteriormente piloerección. En el espectro medio de toxicidad, moderadamente grave (común para las tres cepas), ocurrió sialorrea abundante, temblores generalizados (de presentación más tardía en BALBc), defecación pastosa, convulsiones y signo de Straub (instalación más temprana en C57BL/6); seguidamente bradipnea/apnea e hipotonía del tren anterior (de aparición más temprana en BALBc y en C57BL/6) y finalmente la muerte o sobrevivencia de los animales. Un ratón sobreviviente, de cada cepa, fue elegido al azar para evaluar los cambios histopatológicos en tejido miocárdico causados como efecto tóxico del veneno de *T. nororientalis* sobre corazón.

Los ratones NMRI tratados con veneno de *T. nororientalis* presentaron grandes alteraciones del parénquima cardíaco con necrosis celular y gran congestión vascular. Las fibras mostraron degeneración de sus citoplasmas y núcleos. Los citoplasmas se observaron fragmentados con pérdida de sus estriaciones y con la presencia de estructuras de aparición granular, de color rojizo, el cual, además, se observó en menor cuantía en los vasos sanguíneos. La cepa BALBc igualmente presentó un tejido cardíaco con grandes alteraciones histológicas. Sus fibras en muchas áreas se observaron hinchadas, anucleadas y en otras áreas se notaron con aspecto claro debido a la pérdida de sus estriaciones. Se observó una dilatación y congestión vascular acentuada. En la cepa C57BL/6 se observaron grandes cambios de la

estructura normal con ausencia de los elementos histológicos normales en muchas áreas. Las fibras presentaron alteraciones en núcleos y citoplasmas.

De los resultados histológicos se concluye que todas las cepas estudiadas fueron severamente afectadas por la acción del veneno, provocando degeneración de las fibras miocárdicas, necrosis celular y congestión vascular. La granulación rojiza solamente fue observada en las cepas NMRI. Las cepas homocigóticas (BALBc y C57BL/6) mostraron una aparente mayor afectación. No se observó respuesta inflamatoria.

INTRODUCCIÓN

Los escorpiones pertenecen al Phylum Arthropoda, Clase Arachnida, Orden Scorpiones (Gonzalez-Sponga, 1996a; Manzanilla y col., 2002; Manzanilla y De Sousa, 2003). Este orden, basado en análisis filogenéticos, propuestos por Prendini y Wheeler (2005), está organizado en 18 familias agrupando más de 1 500 especies. La Buthidae, con 80 géneros, posee la más amplia distribución geográfica en el mundo y contiene los taxa de mayor importancia médica (Borges 1996, De Sousa y col., 2000, Borges y De Sousa, 2006). Dentro de los bítidos existen, al menos, seis géneros de importancia clínico-epidemiológica mundial. Así, algunos taxa pertenecientes a los géneros *Androctonus* (norte de África, zona del Mediterráneo y Medio Oriente), *Leiurus* (Medio Oriente), *Mesobuthus* (India, Pakistán), *Buthus* (Mediterráneo y sureste de Asia), *Centruroides* (México, América Central y sureste de Estados Unidos de América) y *Tityus* (parte de Centroamérica, islas del Caribe y Suramérica hasta el norte de Argentina) han producido casos graves y algunas fatalidades debidas a envenenamiento escorpiónico (Dehesa-Dávila, 1989; Lourenço y Cuellar, 1995; Lourenço y col., 1996; Borges 1996; Spirandeli-Cruz 1999; De Sousa y col., 2000; Borges y De Sousa, 2006; Gómez y Otero, 2007); representando un problema de salud publica en la regiones antes mencionadas.

De Sousa y col., (2000) plantearon la existencia de cuatro grandes áreas (macroregiones) endémicas de escorpionismo debidas al género *Tityus*: (1) la Andina (estados Táchira, Mérida, Trujillo y zona sur del lago de Maracaibo); (2) Centro-Occidental (estados Lara y Falcón); (3) la Centro-Norte-Costera (norte de los estados Carabobo y Aragua, estados Miranda, Vargas y Distrito Capital), y finalmente, la macroregión Nororiental, conformada por los estados Anzoátegui, Monagas y Sucre; abarcando el macizo Oriental (sistema montañoso de Paria y la serranía del

Turimiquire, con sus áreas de piedemonte) (De Sousa y col., 1999; De Sousa y col., 2000). Recientemente Borges y De Sousa (2006) actualizaron los criterios clínicos, epidemiológicos, toxinológicos y taxonómicos para redefinir las macroregiones de escorpionismo y agregar a las existentes, las macroregiones Deltana, Zuliana y la Guayano-Amazónica (Borges y De Sousa, 2006). La Nororiental fue complementada con la Insular; una vez conocidos los dos primeros casos de escorpionismo, que cursaron con anormalidades pancreáticas y electrocardiográficas, causados por *T. neoespartanus* (Borges y De Sousa, 2006; De Sousa y col., 2007a) especie relacionada, morfológica y genéticamente, con *T. nororientalis*; escorpión de mayor importancia epidemiológica en el nororiente venezolano (De Sousa, en preparación).

CAPITULO I: EL PROBLEMA

1.1 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En Venezuela, de las 18 familias, cinco están presentes (Buthidae, Chactidae, Euscorpiidae, Hemiscorpiidae y Scorpionidae) agrupando 17 géneros y 184 especies descritas hasta el año 2006 (De Sousa y col., 2006; Rojas-Runjaic y De Sousa, 2007). El género *Tityus*, comprobadamente de trascendencia médica en el país (Mota y col., 1994; Porras y col., 1994; De Sousa y col., 1996; De Sousa y col., 1997; De Sousa y col., 1999; De Sousa y col., 2000; Borges y col., 2002; De Sousa y col., 2005; Borges y De Sousa, 2006; De Sousa y col., 2007a; Mejias y col., 2007; De Sousa y col., 2008a; De Sousa y col., 2008b) es el más especioso con 52 especies (Rojas-Runjaic y De Sousa, 2007); representando prácticamente un tercio del total de todos los *Tityus* (160) descritos desde Costa Rica hasta el norte de Argentina y algunas islas del Caribe (Fet y Lowe, 2000; Lourenço y Bruehmieller-Ramos, 2004; Borges y De Sousa, 2006). De los 52 *Tityus* venezolanos, once han sido incriminados como responsables de accidentes graves y/o fatales, en las regiones más densamente pobladas del país: *T. zulianus*, *T. valerae* (Región Andina y sur del Lago de Maracaibo), *T. perijanensis* (Sierra de Perijá, occidente del estado Zulia), *T. falconensis* (Región Centro-Occidental, en el Macizo Coriano), *T. pittieri*, *T. isabelceciliae*, *T. discrepans* (Región Centro-Norte Costera), *T. quirogae*, *T. nororientalis*, *T. caripitensis* y *T. neoespartanus* (Región Nororiental e Insular). Tres especies adicionales (*T. barquisimetanus*, *T. sanarensis* y *T. ivicnancor*) habitan áreas del estado Lara, donde se han relatado casos severos (Borges y De Sousa, 2006).

Basados en las evidencias anteriores, este proyecto evaluó los cambios histopatológicos en el corazón de ratones NMRI, BALBc y C57BL/6 causados como efecto tóxico del envenenamiento agudo experimental con el veneno de *T.*

nororientalis con el fin de establecer la posible existencia de toxicidad histopatológica diferencial en el tejido cardiaco de los tres modelos múridos. Para tal fin, se administró en ratones hembra de las cepas NMRI, BALBc y C57BL/6, por vía intraperitoneal, y para 60 minutos de experimentación, una DL_{50} como dosis controlada [obtenida por el método secuencial de Dixon y Mood (1948) modificado (Sevcik, 1987)] del veneno de *T. nororientalis*.

1.2 OBJETIVOS

1.2.1 Objetivos Generales

Evaluar los cambios histopatológicos agudos en corazón de ratones hembra, de las cepas NMRI, BALBc y C57BL/6, causados como respuesta de toxicidad aguda experimental de una dosis controlada del veneno de *Tityus nororientalis* inyectado por vía intraperitoneal.

1.2.2 Objetivos Específicos

1. Determinar la DL_{50} como dosis controlada del veneno de *T. nororientalis* para cada cepa de ratón (NMRI, BALBc y C57BL/6).
2. Evaluar, en cada cepa de ratón, los signos clínicos de toxicidad aguda experimental y su curso temporal de aparición, durante sesenta minutos, inducidos como efecto de la inyección intraperitoneal de la dosis controlada de veneno de *T. nororientalis*.

3. Determinar los cambios histopatológicos agudos como efecto de toxicidad aguda experimental del veneno de *T. nororientalis* en corazón de ratones NMRI, BALBc y C57BL/6.
4. Comparar entre las cepas NMRI, BALBc y C57BL/6 los cambios histopatológicos observados en corazón como efecto de toxicidad aguda experimental del veneno de *T. nororientalis*.

1.3 JUSTIFICACIÓN

En Venezuela, el accidente escorpiónico de interés médico es de carácter endémico y un problema de salud pública regionalizado, ubicado fundamentalmente en la franja norte del país; donde se sitúa una alta densidad poblacional humana y, en ella, adicionalmente se ubican varias especies del género *Tityus*, que posee relevancia médica y epidemiológica por ser los responsables de envenenamientos humanos graves y fatales asociados fundamentalmente a complicaciones del sistema cardiorrespiratorio (Borges, 1996; De Sousa y col., 2000; Borges y De Sousa, 2006).

En gran parte de la macroregión endémica de escorpionismo Nororiental habita *T. nororientalis* (González-Sponga, 1996b; Díaz y col., 2005), el bítido de mayor distribución en esta zona, y posiblemente el taxón incriminado en la mayoría de los envenenamientos ocurridos en el estado Sucre [y parte de los sucedidos en Anzoátegui (área noreste) y Monagas (centro-norte)] (De Sousa, en preparación); por lo cual, el estudio de su veneno adquiere trascendencia para establecer el cuadro de toxicidad de los escorpiones nororientales.

El desarrollo de este trabajo se justificaría con base en la inexistencia de investigaciones experimentales previas sobre la evaluación de alteraciones

histopatológicas bruscas desarrolladas en tejido cardiaco de ratones NMRI, BALBc y C57BL/6 como consecuencia del efecto tóxico del envenenamiento agudo experimental con el veneno de *T. nororientalis*. Por este motivo fue de gran interés para el área de Toxinología del Centro de Investigaciones en Ciencias de la Salud (CICS) Escuela de Ciencias de la Salud, Universidad de Oriente, Núcleo Anzoátegui, la realización del presente proyecto, ya que constituye la continuidad en la adquisición de un valioso cuerpo de información que permitirá comprender de forma integral el escorpionismo en el nororiente venezolano.

CAPITULO II: MARCO TEORICO

2.1 Antecedentes históricos

En el Laboratorio de Toxinología del Centro de Investigaciones en Ciencias de la Salud (CICS), Universidad de Oriente, Núcleo de Anzoátegui, desde el año 2000 se construye el mapa toxinológico de la región Nororiental y se optimiza un método para determinar la actividad biológica del veneno de varias especies de escorpiones orientales, entre ellas: *T. nororientalis*, *T. gonzalespongai*, *T. quirogae*, *T. uquirensis*, *T. tenuicauda* y *Rhopalurus laticauda*; para lo cual se ha utilizado el ratón negro homocigoto C57BL/6, el albino homocigoto BALBc y el albino no homocigoto NMRI (Marcano y Mundaray, 2000; Marín y Rodríguez, 2000; Boadas y Marcano, 2004; Turkali, 2004; De Sousa, 2006; Cornejo, 2008; Cova, 2008; Sánquiz y González, 2008; Da Cámara y col., 2008; Hurtado y col., 2008; De Sousa y col., 2009).

Hurtado y col. (2008) demostraron sensibilidad diferencial, dependiente de la cepa de ratón utilizado, al efecto tóxico del veneno de *T. nororientalis*. Demostraron que la DL₅₀, por vip, del veneno de esta especie, fue significativamente menor en ratones C57BL/6 (DL₅₀ vip, 60 minutos = 8,43 (7,94 – 8,91) $\mu\text{g} \times \text{g}^{-1}$ de ratón) que en NMRI (DL₅₀ vip, 60 minutos = 28,18 (26,65 - 29,90) $\mu\text{g} \times \text{g}^{-1}$ de ratón) y en BALBc (DL₅₀ vip, 60 minutos = 40,07 (39,81 - 42,24) $\mu\text{g} \times \text{g}^{-1}$ de ratón) ($p = 0,000001$). La relación DL₅₀/DL₅₀, entre las tres cepas, indicó que ésta es 3,34 veces menor en C57BL/6 que en NMRI y 4,75 veces más reducida que en BALBc. Por estos resultados, los autores recomendaron la cepa C57/BL6 como modelo funcional para la realización de futuros experimentos de evaluación de toxicidad aguda experimental inducida por veneno de escorpiones; en vista de su mayor susceptibilidad al veneno de *Tityus nororientalis* en comparación con los de las cepas NMRI y BALBc. Por

estos antecedentes, evaluar las alteraciones histopatológicas causadas en tejido cardíaco por el veneno de esta especie en cepas de ratones no homocigotos (NMRI) y homocigotos (BALB/c y C57BL/6), ayudaría en la elaboración del mapa de letalidad de las especies de *Tityus* propuesto por Borges (1996) y, más recientemente, para una demarcación del país en “Provincias Toxinológicas” planteada por Borges y De Sousa (2006).

2.2 Taxonomía y Epidemiología

Los escorpiones pertenecen al Phylum Arthropoda, Clase Arachnida, Orden Scorpiones (Gonzalez-Sponga, 1996a; Manzanilla y col., 2002; Manzanilla y De Sousa, 2003). Este orden, basado en análisis filogenéticos, propuestos por Prendini y Wheeler (2005), está organizado en 18 familias agrupando más de 1 500 especies. La Buthidae, con 80 géneros, posee la más amplia distribución geográfica en el mundo y contiene los taxa de mayor importancia médica (Borges 1996, De Sousa y col., 2000, Borges y De Sousa, 2006). Dentro de los bítidos existen, al menos, seis géneros de importancia clínico-epidemiológica mundial. Así, algunos taxa pertenecientes a los géneros *Androctonus* (norte de África, zona del Mediterráneo y Medio Oriente), *Leiurus* (Medio Oriente), *Mesobuthus* (India, Pakistán), *Buthus* (Mediterráneo y sureste de Asia), *Centruroides* (México, América Central y sureste de Estados Unidos de América) y *Tityus* (parte de Centroamérica, islas del Caribe y Suramérica hasta el norte de Argentina) han producido casos graves y algunas fatalidades debidas a envenenamiento escorpiónico (Dehesa-Dávila, 1989; Lourenço y Cuellar, 1995; Lourenço y col., 1996; Borges 1996; Spirandeli-Cruz 1999; De Sousa y col., 2000; Borges y De Sousa, 2006; Gómez y Otero, 2007); representando un problema de salud publica en la regiones antes mencionadas.

De Sousa y col., (2000) plantearon la existencia de cuatro grandes áreas (macroregiones) endémicas de escorpionismo debidas al género *Tityus*: (1) la Andina (estados Táchira, Mérida, Trujillo y zona sur del lago de Maracaibo); (2) Centro-Occidental (estados Lara y Falcón); (3) la Centro-Norte-Costera (norte de los estados Carabobo y Aragua, estados Miranda, Vargas y Distrito Capital), y finalmente, la macroregión Nororiental, conformada por los estados Anzoátegui, Monagas y Sucre; abarcando el macizo Oriental (sistema montañoso de Paria y la serranía del Turimiquire, con sus áreas de piedemonte) (De Sousa y col., 1999; De Sousa y col., 2000). Recientemente Borges y De Sousa (2006) actualizaron los criterios clínicos, epidemiológicos, toxinológicos y taxonómicos para redefinir las macroregiones de escorpionismo y agregar a las existentes, las macroregiones Deltana, Zuliana y la Guayano-Amazónica (Borges y De Sousa, 2006). La Nororiental fue complementada con la Insular; una vez conocidos los dos primeros casos de escorpionismo, que cursaron con anormalidades pancreáticas y electrocardiográficas, causados por *T. neoespartanus* (Borges y De Sousa, 2006; De Sousa y col., 2007a) especie relacionada, morfológica y genéticamente, con *T. nororientalis*; escorpión de mayor importancia epidemiológica en el nororiente venezolano (De Sousa, en preparación).

En gran parte de la macroregión Nororiental habita *Tityus nororientalis* (González-Sponga, 1996b; Díaz y col., 2005); taxón posiblemente incriminado en la mayoría de los envenenamientos ocurridos en el estado Sucre [y parte de los sucedidos en Anzoátegui (área noreste) y Monagas (centro-norte)] (De Sousa, en preparación). Tiene su localidad tipo en Catuaro (municipio Ribero) y con distribución en el embalse El Clavellino (municipio Ribero), Marigüitar (municipio Bolívar), Pericantar, San Antonio del Golfo (municipio Mejía) y hacienda La Rinconada, Cumanacoa (municipio Montes), Sin embargo, investigaciones en curso demuestran, al presente, que es la especie con el mayor rango de ordenación territorial en el nororiente venezolano (De Sousa, en preparación). Los resultados actuales indican un incremento de su distribución dentro del estado Sucre y hasta los

estados Anzoátegui y Monagas (abarcando áreas donde antes no se había reportado su presencia). Más recientemente la especie se localizó en el caserío Las Melenas (municipio Mariño), en Macuro (municipio Valdéz), Península de Paria, estado Sucre y en la población de Capure (municipio Pedernales), estado Delta Amacuro (De Sousa, en preparación).

2.3 Características del veneno

La especie, la región geográfica y el hábitat, en apariencia, determinan el contenido del veneno de estos artrópodos; cuya toxicidad puede variar entre diferentes países e incluso entre distintas zonas del mismo país. Por lo tanto, su composición es compleja y variable (Borges y col., 1990); un único veneno puede abarcar entre 100 y 200 componentes de origen polipeptídico, cada uno con propiedades farmacológicas distintas (Harvey y col., 1998; Possani y col., 1999; Tsushima y col., 1999; Barona y col., 2004; Borges y col., 2004a; Borges y col., 2004b; Barona y col., 2006; Borges y col., 2006a; Borges y col., 2006b; Borges y De Sousa, 2006; Leipold y col., 2006; Borges y Rojas-Runjaic, 2007; Borges y col., 2008). Dichos componentes tóxicos, presentes en los venenos de algunos bñtidos, son proteínas de bajo peso molecular, entre 6 000 y 9 000 de masa molar, esenciales en el efecto tóxico, y causantes de las alteraciones fisiológicas observadas tanto en el modelo experimental como en el humano. Sus componentes más letales son las α - y β -toxinas; cuyos blancos moleculares son los canales de Na^+ voltaje-dependiente en las membranas excitables; modificando los mecanismos de permeabilidad iónica fundamentales para la homeostasis celular de varios órganos y sistemas (Becerril y col., 1995; Becerril y col., 1997; Borges y col., 1999; Tsushima y col., 1999; Barona y col., 2005; Borges y col., 2006a; Borges y De Sousa, 2006; Leipold y col., 2006; Borges y col., 2008). Sus efectos farmacológicos posteriores se deben, al menos en parte, a la descarga de catecolaminas y acetilcolina como resultado de la

despolarización de terminales pre- y post-ganglionares del sistema nervioso autonómico, produciendo los signos y síntomas clásicos observados en el escorpionismo (humano, veterinario y experimental) (Saldarriaga y Otero, 2000, Mazzei y col., 2002, Borges y col., 2004a; Borges y De Sousa, 2006; De Sousa y col., 2007a).

2.4 Manifestaciones clínicas

El envenenamiento escorpiónico es un complejo sindromático principalmente asociado a disfunción en los sistemas cardiorrespiratorio, nervioso e inflamatorio. Los síntomas generales suelen comenzar transcurridos entre uno y sesenta minutos posteriores al evento (De Sousa y col., 1995; Sofer y col., 1996; Mazzei y col., 1997; Otero y col., 1998; Voronon y col., 1999; Mazzei y col., 2002; Otero y col., 2004; Borges y De Sousa, 2006; De Sousa y col., 2007a). El envenenamiento humano por algunas especies de *Tityus* representa una emergencia pediátrica en Brasil (Lourenço y Cuellar, 1995; Biondi-Queiroz y col., 1996; Lourenço y col., 1996), Colombia (Otero y col., 1998; Saldarriaga y Otero, 2000; Gómez y col., 2002; Otero y col., 2004) y Venezuela (Borges, 1996; De Sousa y col., 2000; Borges y De Sousa, 2006; De Sousa y col., 2007a). Las manifestaciones clínicas tóxicas del escorpionismo dependen de la especie y tamaño del animal, de la cantidad de veneno inyectado, del peso corporal del individuo afectado y de su susceptibilidad, siendo más grave la toxicidad en los niños, en especial en los menores de seis años, y en los ancianos; de tal manera que la severidad puede clasificarse en leve, moderada y grave (Borges, 1996; Borges y De Sousa, 2006; De Los Ríos, 2006).

Las manifestaciones clínicas pueden agruparse en aquellas de tipo colinérgico (vómitos, dolor abdominal, sialorrea, náuseas, diaforesis, bradicardia sinusal, hipotensión arterial, bradipnea, broncoespasmo, diarrea, miosis, parestesias,

calambres, disartria, fasciculaciones musculares) y las de tipo adrenérgico (prurito nasal, palidez cutánea, frialdad de extremidades, piloerección, taquicardia sinusal, hipertensión arterial, taquipnea, priapismo, midriasis). Debe destacarse que en los pacientes envenenados, puede predominar la clínica colinérgica o la adrenérgica o presentarse una combinación de ambas. Las complicaciones más importantes son: alteraciones cardíacas, pancreatitis y edema agudo de pulmón. En los pacientes graves, es posible observar agitación psicomotriz, fasciculaciones musculares, convulsiones, cambios electrocardiográficos, insuficiencia cardíaca, insuficiencia respiratoria o edema pulmonar agudo y shock, así como coagulación intravascular diseminada y anemia hemolítica (Illanes, 1981; Biondi-Queiroz y col., 1996; Sofer y col., 1996; Mazzei y col., 1997; Otero y col., 1998; Voronon y col., 1999; De Sousa y col., 2000; Saldarriaga y Otero, 2000; Gómez y col., 2002; Otero y col., 2004; Borges y De Sousa, 2006; De Sousa y col., 2007; Gómez y Otero, 2007).

2.5 Histopatología

Las manifestaciones clínicas tóxicas del escorpionismo (humano y experimental) están relacionadas, experimentalmente, con alteraciones de la arquitectura histológica de varios órganos y sistemas. Desde el punto de vista histopatológico se han observado cambios estructurales en distintos tejidos de ratones inyectados, con el veneno de varias especies de *Tityus* venezolanos. Por ejemplo, en páncreas, después de la administración por vía intraperitoneal de la fracción III del veneno de *Tityus discrepans*; se produce degranulación y vacuolización de las células acinares y aumento de la región intersticial; signos compatibles con los de la pancreatitis aguda (D'Suze y col., 1995). En ratones tratados con el veneno de *Tityus caripitensis*, Lugo y Urbaneja (2007) evidenciaron degranulación en parches, edema intersticial e hipertrofia de islotes de Langerhans. Posteriormente, daño severo con edema intenso y foco de células acinares con vacuolización citoplasmática,

desorganización acinar, alteración de los grupos de células de ubicación predominantemente paratrabecular, con necrosis isquémica, citoplasma granular y núcleos contraídos e hipercromáticos.

Dosis subletales del veneno de *Tityus caripitensis*, administrado intramuscularmente en ratones NMRI, provocaron alteraciones en la estructura morfológica del parenquima renal. Las más frecuentes fueron focos hemorrágicos, marcada congestión y dilatación vascular; así como, evidente infiltrado inflamatorio fundamentalmente peritubular, constituido por linfocitos, linfoblastos, algunas células reticulares y polimorfonucleares. Los glomerulos renales mostraron diferentes grados de alteraciones de su arquitectura histológica como hipertrofia, gran celularidad, dilatación de las asas vasculares y de la cápsula de Bowman y en muchos casos, pérdida del ovillo glomerular. A nivel de los túbulos renales, cambios en los contorneados proximales y en los colectores con mayor grado de degeneración en estos últimos. En ambos se observó pérdida de la estructura de la pared con descamación de sus células hacia el lumen. En muchos casos las células contenían citoplasma turbio y pérdida del núcleo compatible con degeneración hidrópica. Las alteraciones fueron menos notables y los infiltrados menos frecuentes en la médula renal; sin embargo, la superficie apical de las células de las asas gruesas, en muchos casos, presentaron una especie de evaginación dando a las mismas aspecto de vacío (Portillo y col., 1996).

En miocardio de ratones albinos, inyectados con este mismo veneno, se observaron áreas de degeneración de fibras miocárdicas, infiltrado difuso mononuclear, celularidad intersticial aumentada, congestión vascular y hemorragia; adicionalmente, en algunos ratones se encontró focos inflamatorios compuestos por polimorfonucleares (Fermín y Quintero, 1996; Fong y García, 1994).

CAPITULO III: MARCO METODOLOGICO

3.1 Fuente del veneno de escorpión

Para la ejecución de la presente investigación se capturó la especie *Tityus nororientalis* en la localidad de Las Melenas (10°40'57''N, 62°37'17''W; 785 m de altitud; GPS Garmin®) municipio Mariño, estado Sucre. Durante el día fueron localizados bajo troncos, en el interior de la corteza parcialmente desprendida de los árboles, en el interior de troncos en proceso de descomposición y en la base de plantas de cafeto (*Coffea arabica*) o de cacao (*Theobroma cacao*). Durante la noche se utilizaron lámparas portátiles de luz ultravioleta. Posteriormente fueron trasladados al Laboratorio de Toxinología, Centro de Investigaciones en Ciencias de la Salud (CICS), Universidad de Oriente, Núcleo de Anzoátegui, donde se mantuvieron vivos para la extracción de su veneno.

3.2 Extracción y purificación parcial del veneno

Los escorpiones fueron ordeñados por estimulación eléctrica, a razón de 5 pulsos rectangulares de 60 V/pulso durante 100 mseg, generados con un neuroestimulador Phipps-Bird®, modelo 611 con cinco trenes de pulsos; cada uno con un lapso de cinco a seis segundos de duración según técnica desarrollada en el Laboratorio de Alacranología, Escuela de Ciencias de la Salud, Universidad de Oriente, Núcleo de Bolívar (Quiroga y col., 1982; Parrilla-Álvarez, 1999).

El veneno eyectado de ejemplares hembras y machos, fue recogido de forma separada en tubos capilares de 100 µl de capacidad y luego transferido a tubos

Eppendorf de 1,5 ml. El veneno fue suspendido en 1 ml de agua bidestilada y agitado en vortex (Super-Mixer[®]). Consecutivamente se centrifugó a 14 000 g (Labnet para tubos Eppendorf[®], modelo Z180M) por 20 minutos para separar restos celulares de la fase soluble que contiene las proteínas con actividad farmacológica. Se realizaron diluciones del veneno, cuando fue necesario 1/5, 1/10 o 1/20, en agua bidestilada como paso previo a la cuantificación de las proteínas contenidas en el veneno (De Sousa, 2006; De Sousa y col., 2009).

3.3 Determinación de la concentración de proteínas

Se determinó la concentración de proteínas en la fracción soluble, obtenida en el proceso de centrifugación, mediante lectura de absorbancia en espectrofotómetro (Jenway[®], modelo 6405 UV/vis) a una longitud de onda de 280 nm, asumiendo que 1 unidad de absorbancia (a esta longitud) representó una concentración de 1 mg.ml⁻¹ (Possani *et al.* 1977). Alícuotas de 1 ml del veneno, de ejemplares hembras, se almacenó a -20 °C hasta el momento de su uso para evaluar su actividad biológica en los modelos múridos [el resto fue liofilizado (liofilizador Labconco[®]) (De Sousa 2006, De Sousa *et al.* 2009).

3.4 Designación de una DL₅₀ como dosis controlada del veneno de *T. nororientalis*

Las DL₅₀ del veneno, de ejemplares hembra, de *Tityus nororientalis*, para una hora de experimentación, se determinó (en trabajos previos) por el método secuencial de Dixon y Mood (1948) modificado por Sevcik (1987) en ratones hembra NMRI (Da Cámara y col., 2008; Hurtado y col., 2008) (figura 1), BALBc (Sánquiz y González,

2008; Hurtado y col., 2008) (figura 2) y C57BL/6 (Cova, 2008; Hurtado y col., 2008) (figura 3). Para detalles del método consultar a De Sousa y col., 2009.

3.5 Evaluación de los signos de toxicidad aguda experimental y su curso temporal de aparición

Se escogió al azar, del lote existente, cuatro ratones hembra de cada cepa (NMRI, BALBc y C57BL/6), adquiridas en el Bioterio del Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas (IVIC) y disponibles en el Área de Toxinología del Centro de Investigaciones en Ciencias de la Salud (CICS) de la Universidad de Oriente, Núcleo de Anzoátegui, hidratados y alimentados *ad libitum*, fueron inyectados por vía intraperitoneal con una DL_{50} , como dosis controlada, del veneno de *T. nororientalis*. En tal sentido, a cada uno de los cuatro ratones NMRI se les administró una dosis de 28,18 $\mu\text{g/g}$ de ratón, a los cuatro BALBc 40,07 $\mu\text{g/g}$ de ratón y a los cuatro de la cepa C57BL/6 8,43 $\mu\text{g/g}$ de ratón.

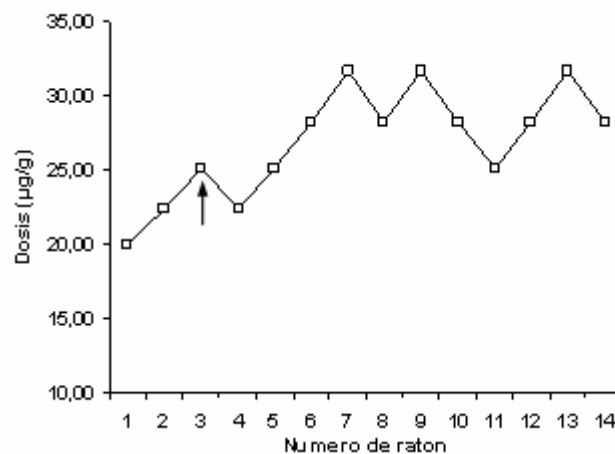


Figura 1. DETERMINACIÓN DE LA DOSIS LETAL CINCUENTA (DL_{50}) DEL VENENO DE *Tityus nororientalis* POR VIP EN RATONES DE LA CEPA NMRI. Ratones hembra, cepa NMRI, con pesos entre 30,38 y 37,87 g fueron inyectados vip

con el veneno de *Tityus nororientalis*. Los animales fueron observados por 60 minutos. La flecha indica el punto de inflexión e inicio de los datos válidos para el cálculo de la DL₅₀. El resultado se presenta como la mediana y sus límites para un 95% de confianza (entre paréntesis):

DL₅₀ vip, 60 minutos = 28,18 (26,65 - 29,90) $\mu\text{g}\times\text{g}^{-1}$ de ratón

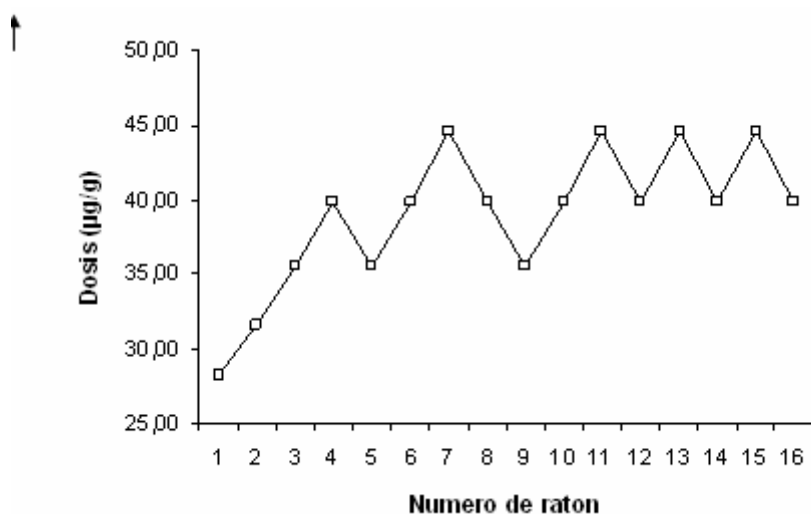


Figura 2. DETERMINACIÓN DE LA DOSIS LETAL CINCUENTA (DL₅₀) DEL VENENO DE *Tityus nororientalis* POR VIP EN RATONES DE LA CEPA BALBc.

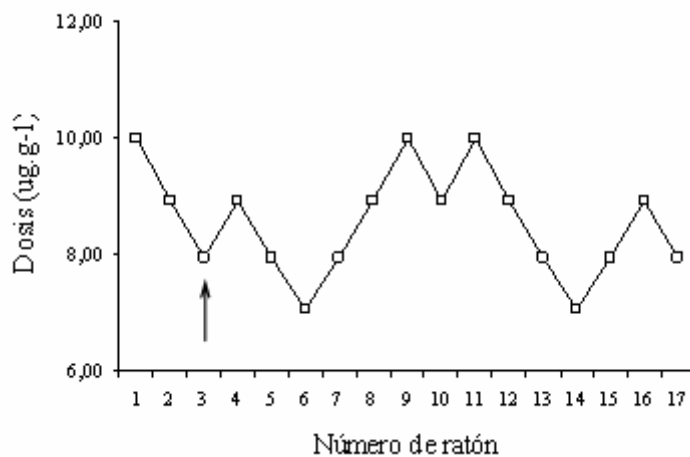
Ratones hembra, cepa BALBc, con pesos entre 17,50 y 25,89 g fueron inyectados vip con el veneno de *Tityus nororientalis*. Los animales fueron observados por 60 minutos. La flecha indica el punto de inflexión e inicio de los datos válidos para el cálculo de la DL₅₀. El resultado se presenta como la mediana y sus límites para un 95% de confianza (entre paréntesis)

DL₅₀ vip, 60 minutos = 40,07 (39,81 - 42,24) $\mu\text{g} \otimes \text{g}^{-1}$ de ratón.

Figura 3. DETERMINACIÓN DE LA DOSIS LETAL CINCUENTA (DL₅₀) DEL VENENO DE *Tityus nororientalis* POR VIP EN RATONES DE LA CEPA C57BL/6.

Ratones hembra cepa C57BL/6 con pesos entre 17,58 y 22,72 g fueron inyectados vip con el veneno de *Tityus nororientalis*. Los animales fueron observados por 60 minutos. La flecha indica el punto de inflexión e inicio de los datos válidos para el cálculo de la DL₅₀. El resultado se presenta como la mediana y sus límites (entre paréntesis) para un 95% de confianza

DL₅₀, vip, 60 minutos = 8,43 (7,94 - 8,91) mg × kg⁻¹ de ratón.



Los signos clínicos expresados como efecto de toxicidad aguda experimental inducida por la inyección intraperitoneal de las dosis controladas del veneno de *Tityus nororientalis*, fueron observados meticulosamente durante los 60 minutos de experimentación y tabulados cronológicamente; adicionalmente se registró el resultado final de sobrevivencia o muerte. Los ratones que sobrevivieron, al finalizar el tiempo establecido de observación, fueron sacrificados por dislocación cervical. Se utilizaron animales testigo a los cuales se les administró solución fisiológica en volúmenes similares a los del grupo experimental.

3.6 Descripción de los cambios histopatológicos agudos en corazón de ratones NMRI, BALBc y C57BL/6 causados por la inyección intraperitoneal del veneno de *Tityus nororientalis*

Una vez cumplido el tiempo de sesenta minutos de exposición al tratamiento, un animal sobreviviente de cada cepa fue elegido al azar para evaluar los cambios histopatológicos agudos causados por el veneno de *T. nororientalis*. Seguidamente se practicó, en cada uno, incisión en la línea medio esternal y abdominal; con extirpación de las vísceras en bloque y consecutivamente fijación mediante inmersión en formalina al 10% (similarmente se procedió con los controles para cada cepa). Luego de fijados los órganos, durante tres días, se procedió a la separación de los corazones (de cada una de las cepas y de los controles) para colocarlos individualmente en cajetillas de inclusión para su posterior tratamiento.

Las piezas se colocaron en frasco boca ancha con agua corriente, por quince minutos, para eliminar la formalina. Posteriormente se procedió a deshidratar los corazones mediante su inmersión en etanol, a concentraciones crecientes (v/v), al 70%, 80%, 95% y finalmente 100%. Cada paso de deshidratación duró 30 minutos. Posteriormente, el tejido se fijó con Xilol (solución 50-50 v/v de alcohol-xilol) por 15

minutos, luego 2 períodos en xilol de 15 minutos cada uno. Finalmente incluidos en bloque de parafina para la posterior realización de los cortes.

Se procedió a realizar los cortes con un micrótomo ajustado a 3 micras, y se procedió a pasar la cinta del corte por un baño caliente (45°C). Los cortes se separaron por medio de una espátula caliente y se recogieron por medio de portaobjetos ya tratado con albúmina de Mayer. Se escurrió el exceso de agua, se marcaron los portaobjetos con sus nombres correspondientes y se llevaron a la estufa entre 50 y 55°C hasta obtener su secado en un tiempo aproximado entre 20 y 30 minutos, luego se dejaron a temperatura ambiente.

Enfriados se procedió a fijar y colorear los cortes con Hematoxilina-Eosina (H-E), posteriormente se lavaron con agua corriente (dejando secar la muestra) y se colocó el cubre-objeto. Posteriormente se observaron con el microscopio óptico para el estudio de los tejidos cardíacos.

CAPITULO IV: ANALISIS Y PRESENTACION DE RESULTADOS

4.1 Curso temporal de toxicidad aguda experimental

Luego de la exposición, durante sesenta minutos, al tratamiento conformado por una DL_{50} , como dosis controlada, se obtuvo una frecuencia de 50% ($n = 2$) de sobrevivencia para cada una de las cepas evaluadas. En la figura 4 se presenta la comparación del curso temporal de aparición de los signos de toxicidad aguda experimental inducidas por el veneno de *Tityus nororientalis* en ratones, hembra, de las cepas de NMRI, BALBc y C57BL/6. En todos los casos la toxicidad se inició con hiperactividad seguida de sialorrea escasa y posteriormente piloerección. En el espectro medio de toxicidad, moderadamente grave (común para las tres cepas), ocurrió sialorrea abundante, temblores generalizados (de presentación más tardía en BALBc), defecación pastosa, convulsiones y signo de Straub (instalación más temprana en C57BL/6). En todos los casos, la toxicidad grave se expresó como secreción ocular (de aparición más temprana en BALBc y en C57BL/6), marcha atáxica (instalación más temprana en C57BL/6), exoftalmos (instalación más temprana en C57BL/6); seguidamente de bradipnea/apnea e hipotonía del tren anterior (de aparición más temprana en BALBc y en C57BL/6) y finalmente la muerte o sobrevivencia de los animales.

Al comparar las tendencias (figura 4), varios signos presentaron diferencias entre las tres cepas: temblores generalizados, signo de Straub, secreción ocular, marcha atáxica, exoftalmos e hipotonía del tren anterior. El primero de presentación más tardía en BALBc que en NMRI y en C57BL/6; el segundo de instalación muy temprana (alrededor de los 5 minutos) en C57BL/6, la secreción ocular de exhibición

más tardía en NMRI que en BALBc y en C57BL/6, la marcha atáxica de instalación más precoz en C57BL/6 (alrededor de los 5 minutos) que en BALBc (aproximadamente a los 10 minutos) y, este a su vez, menor que en NMRI (cerca de los 25 minutos). Por último, la hipotonía del tren anterior en BALBc y en C57BL/6 alrededor de los 20 minutos y el exoftalmos de instalación precoz en C57BL/6 (10 minutos) en comparación con NMRI o BALBc (25 minutos). El curso temporal demostró que el exitus letales en los ratones ocurrió alrededor de los 40 minutos (NMRI = 42,5; BALBc = 40,0 y C57BL/6 = 37,0).

Algunos efectos relevantes de toxicidad aguda se presentan en las figuras 5, 6 y 7 (fotografías cortesía de Cornejo, 2008; Cova, 2008; Da Camara y col., 2008; Hurtado y col., 2008; Sanquíz y González, 2008): facies tóxica y piloerección, signos de estimulación muscarínica (sialorrea, secreción ocular y defecación pastosa). Otros signos observados: Signo de Straub, convulsiones e hipotonía muscular. Los signos antes de morir fueron los periodos de bradipnea/apnea (con cianosis peribucal). Los ratones que evolucionaron al *exitus letalis* presentaron apnea prolongada y finalmente convulsiones con parálisis espástica.

Un ratón sobreviviente, de cada cepa, fue elegido al azar para evaluar los cambios histopatológicos causados como efecto tóxico del veneno de *T. nororientalis* sobre corazón.

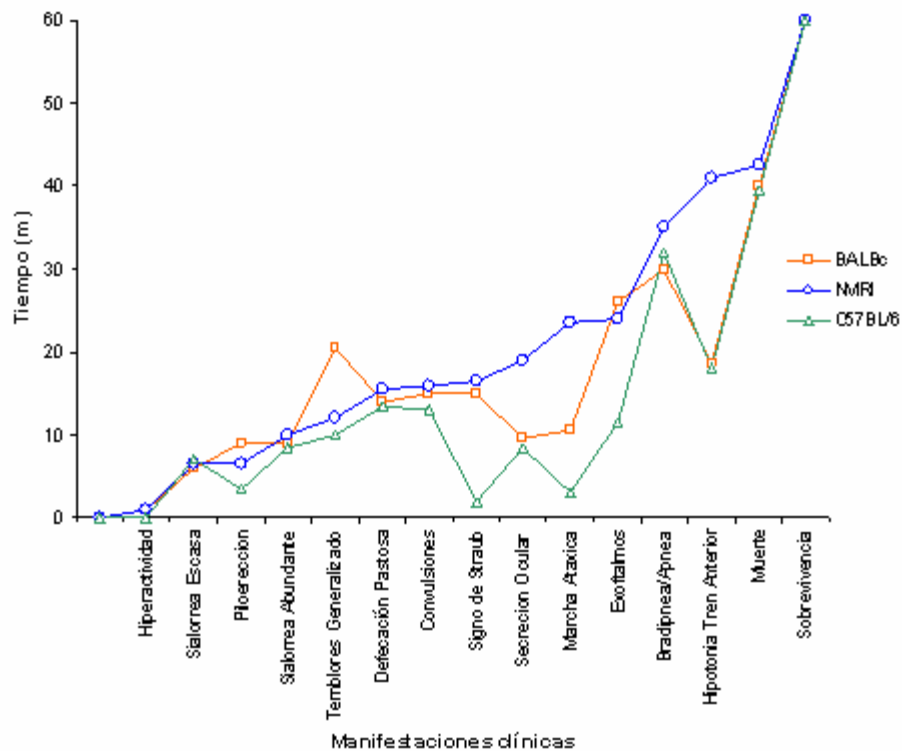


Figura 4. COMPARACIÓN DEL CURSO TEMPORAL DE APARICIÓN DE LOS SIGNOS DE TOXICIDAD AGUDA EXPERIMENTAL INDUCIDOS POR EL VENENO DE *Tityus nororientalis* ADMINISTRADO POR VIP EN RATONES DE LAS CEPAS NMRI, BALBc Y C57BL/6.

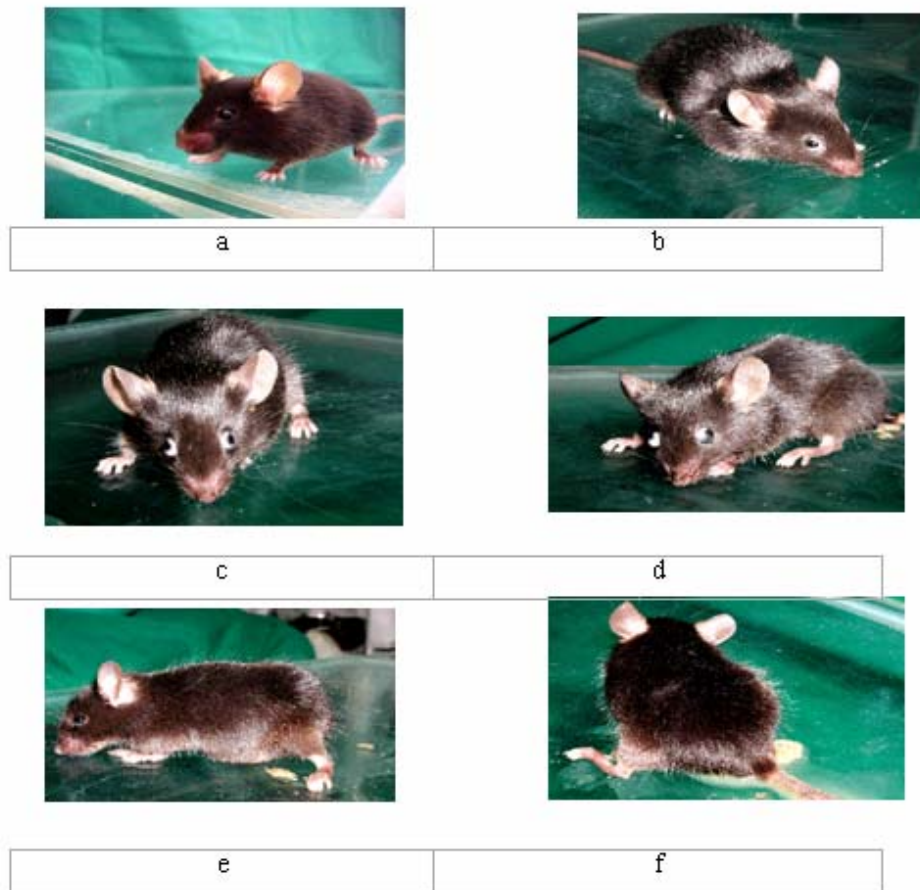


Figura 5. COMPARACIÓN DE UN RATÓN C57BL/6 CONTROL CON UNO SOBREVIVIENTE INYECTADO, POR VIP, CON EL VENENO DE *Tityus tenuicauda* MOSTRANDO ALGUNOS SIGNOS DE TOXICIDAD AGUDA.

Estas fotos se obtuvieron después de administrar una DL_{50} del veneno de *Tityus tenuicauda*. (a) Ratón testigo (sano). (b), (c) y (d) Secreción ocular evidente. En (c y d), nótese exoftalmo bilateral (e) Hipotonía, defecación pastosa y distensión abdominal). (f) Defecación líquida (tomado de Cornejo, 2008).

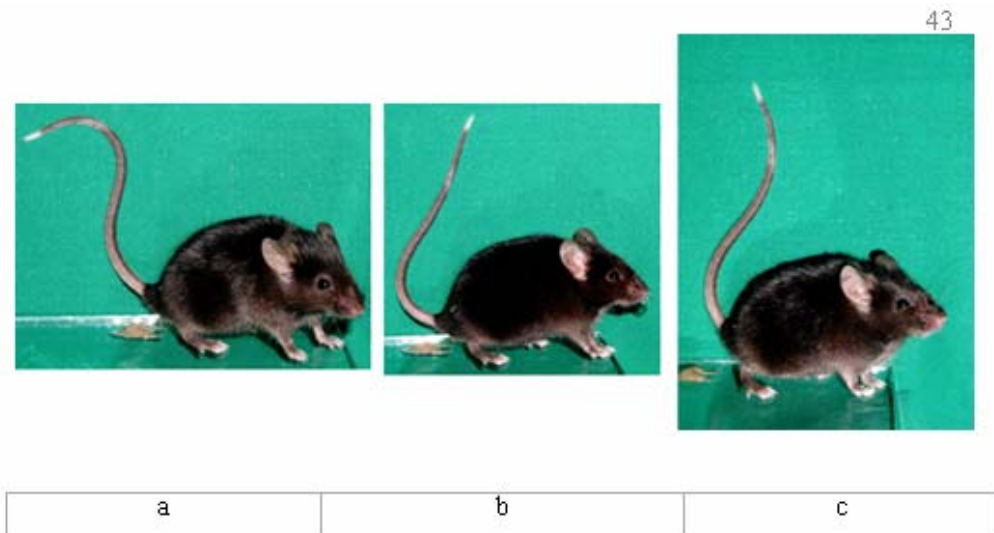


FIGURA 6. RATÓN C57BL/6 SOBREVIVIENTE INYECTADO POR VIP CON EL VENENO DE *Tityus nororientalis* MOSTRANDO LA SECUENCIA DE PRESENTACIÓN DEL SIGNO DE STRAUB.

Estas fotos se obtuvieron después de administrar una DL_{50} del veneno de *Tityus nororientalis*. Secuencia desde “a” hasta “c” (tomado de Cova, 2008).

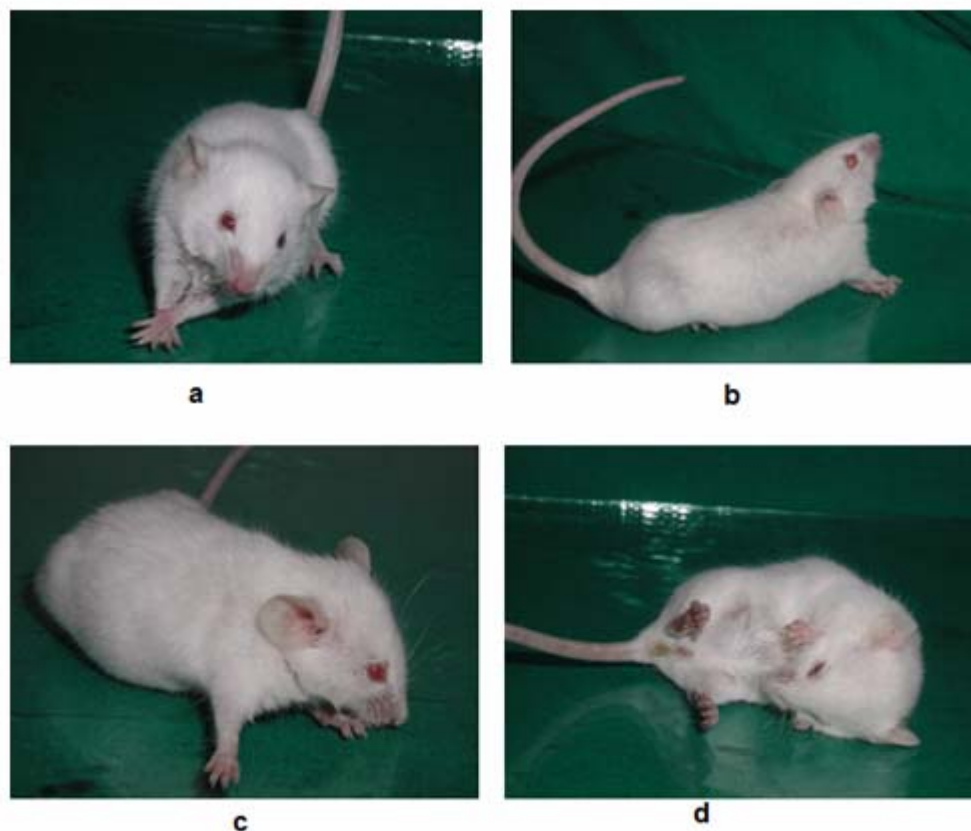


Figura 7. RATON HEMBRA, NMRI, INYECTADA POR VIP CON EL VENENO DE *Vipera nororientalis* MOSTRANDO ALGUNOS SIGNOS DE TOXICIDAD AGUDA.

(a) y (b) Facies tóxica, hipotonía, sialorrea y piloerección [nótese: debilidad del tren anterior y fundamentalmente del posterior]. (b) Signo de Straub [nótese la cola perpendicular al plano dorsal del cuerpo e hiperextensión del cuello (por contractura muscular dorsal) y postura mostrando debilidad del tren posterior y anterior]. (c) Postura mostrando debilidad muscular del tren anterior y posterior (nótese facies tóxica y la distensión abdominal). (d) Convulsiones tónico-clónicas en periodo post-ictal (tomado de Da Cánara y col., 2008 y Hurtado y col., 2008).

4.2 Hallazgos histopatológicos

Las figuras, 8 a la 13, muestran imágenes de tejido cardíaco normal de los ratones controles NMRI, BALBc y C57BL/6. En todas ellas el miocardio se caracterizó por presentar fibras principalmente paralelas, de diámetro variable, con numerosos haces cruzados de fibras que se bifurcan y se conectan con fibras adyacentes para formar una red tridimensional. Entre ellos se encuentra un tejido conectivo fino que contiene vasos sanguíneos. Los núcleos de las unidades celulares están ubicadas dentro de las mismas con apariencia central, rodeados de sarcoplasma claro y cromatina finamente distribuida que le confiere un color claro. El sarcoplasma está ocupado por haces filamentosos paralelos que son las miofibrillas.

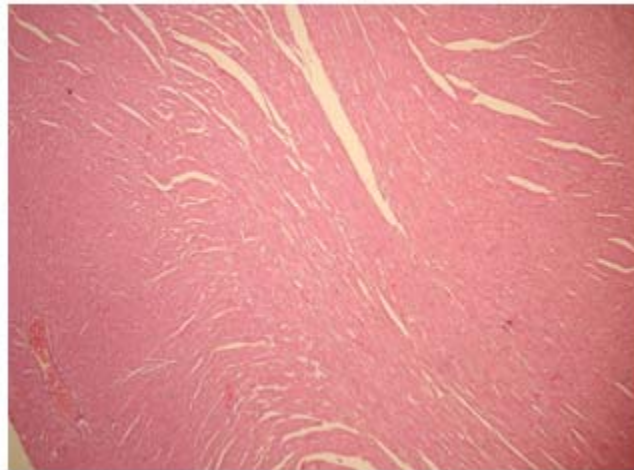


Figura 8. SECCIÓN PANORÁMICA DE TEJIDO CARDÍACO CORRESPONDIENTE A UN RATÓN CONTROL DE LA CEPA NMRI. (H-E), 250X

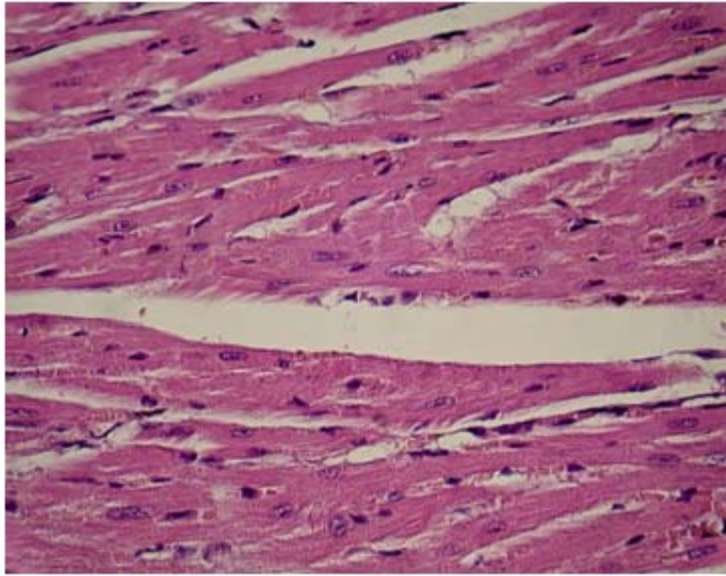


Figura 9. SECCIÓN DE TEJIDO CARDÍACO CORRESPONDIENTE A UN RATÓN CONTROL DE LA CEPA NMRI.

Corte de sección longitudinal. Nótese la integridad de las fibras cardíacas que muestran su núcleo central y sus correspondientes estriaciones. H-E, 400X.

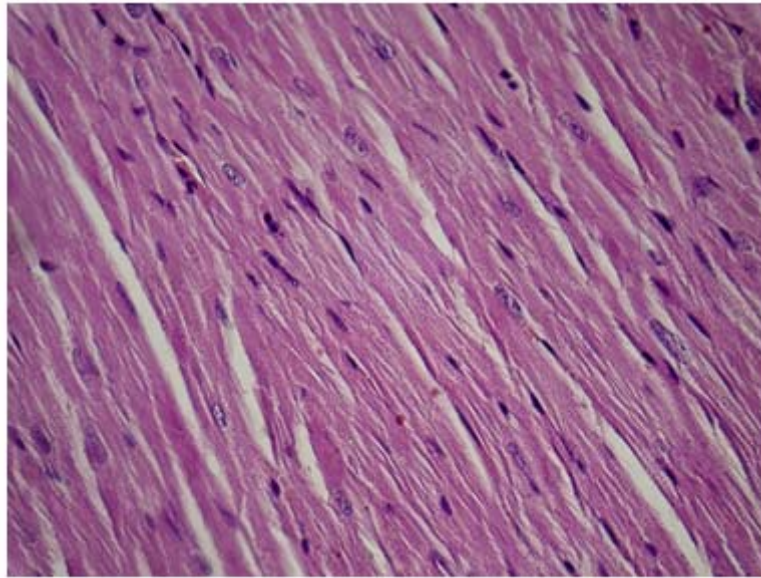


Figura 10. SECCIÓN DE TEJIDO CARDÍACO CORRESPONDIENTE A UN RATÓN CONTROL DE LA CEPA BALBc.

Fibras cardíacas vistas longitudinalmente. Apréciase las características normales de las mismas. H-E, 400X.

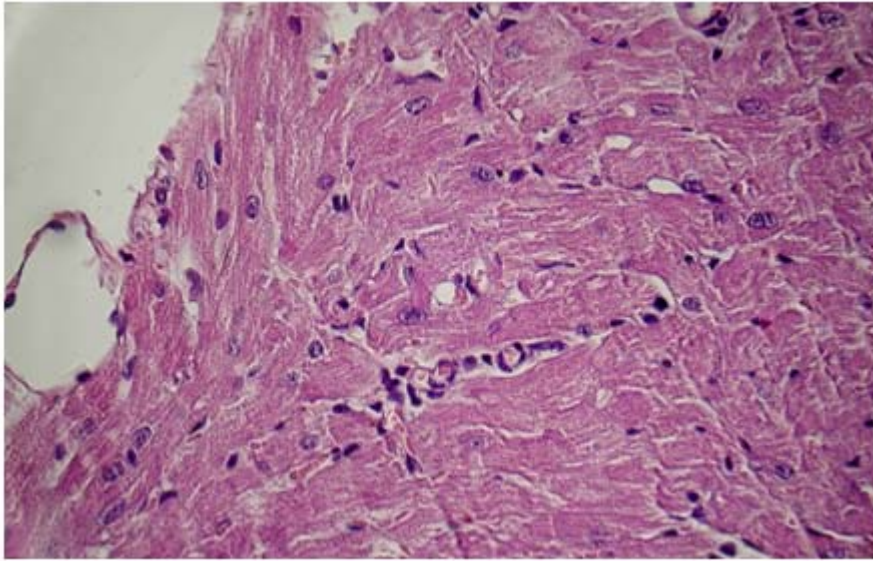


Figura 11. SECCIÓN DE TEJIDO CARDÍACO CORRESPONDIENTE A UN RATÓN CONTROL DE LA CEPA BALBc. H-E, 400X.

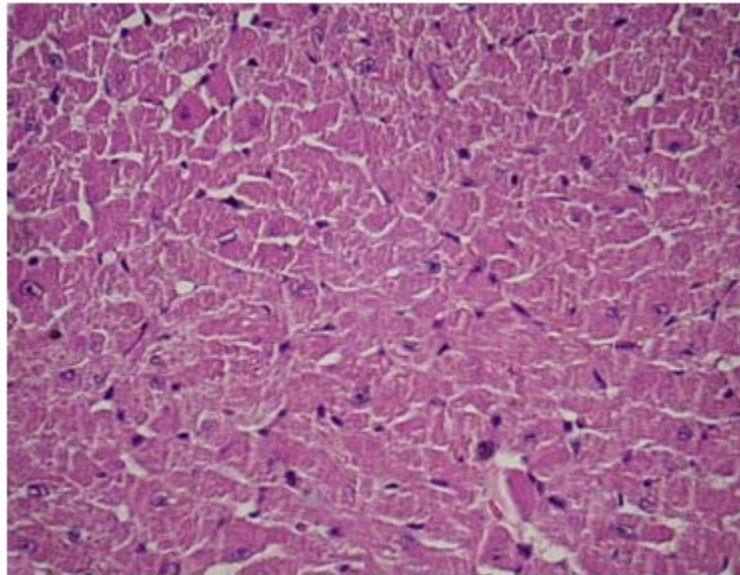


Figura 12. SECCIÓN DE TEJIDO CARDÍACO CORRESPONDIENTE A UN RATÓN CONTROL DE LA CEPA C57BL/6.

Músculo cardíaco cortado transversalmente. Obsérvese la integridad de las fibras y de sus núcleos. H-E, 400X.

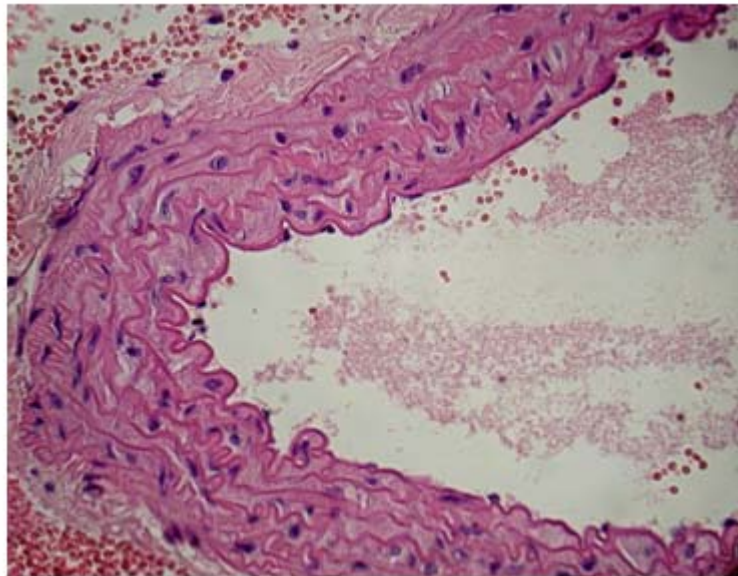


Figura 13. SECCIÓN DE UNA PEQUEÑA ARTERIA OBSERVADA EN UN RATÓN CONTROL DE LA CEPA C57BL/6

Nótese la integridad de las tres capas de su pared (íntima, media y adventicia).
H-E, 400X.

4.3 Descripción de los cambios histopatológicos causados por el veneno de *T. nororientalis* en tejido cardíaco del ratón NMRI

El ratón NMRI tratado con veneno de *T. nororientalis* mostró un parénquima cardíaco con necrosis celular focal, dilatación y congestión vascular. Muchas áreas del parénquima presentaron ruptura de los haces fibrilares con degeneración de las fibras musculares (figura 14), las cuales, se caracterizaron por alteraciones en sus citoplasmas (pérdida de estriaciones) y núcleos, estos últimos con un patrón de distribución irregular de su cromatina así como signos de vacuolización (figura 15, 16).

Un hallazgo relevante en el tejido estudiado fue la presencia de un contenido granular intracelular, aparentemente rojizo, que fue detectado igualmente en algunos vasos sanguíneos (figura 15, 16).

Es importante mencionar la presencia de edema en el tejido cardíaco en los ratones NMRI (figura 14, 15, 17)

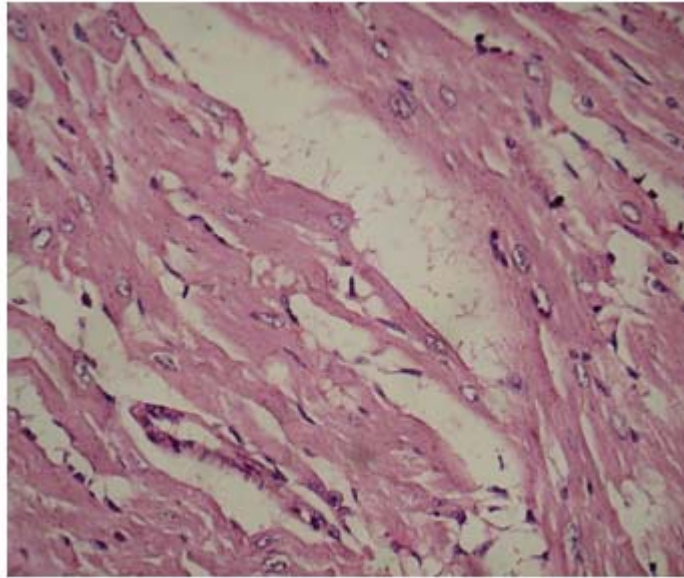


Figura 14. SECCIÓN DE TEJIDO CARDÍACO DE RATÓN NMRI INYECTADO CON VENENO DE *Tityus nororientalis*.

Las fibras musculares muestran varios grados de degeneración, tales como: pérdida completa de las estriaciones, fragmentación del sarcoplasma y necrosis. Edema intersticial evidente. H-E, 400X.

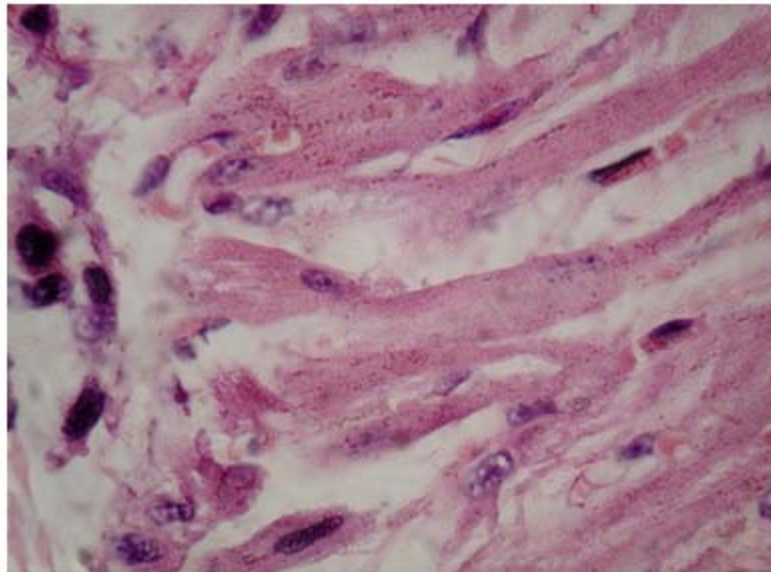


Figura 15. SECCIÓN DE TEJIDO CARDÍACO DE RATÓN NMRI INYECTADO CON VENENO DE *Tityus nororientalis*.

Nótese la separación de las fibras por abundante edema así como la pérdida de estriaciones y núcleos y la presencia de abundantes gránulos de color rojizo en el citoplasma. H-E, 1000X.

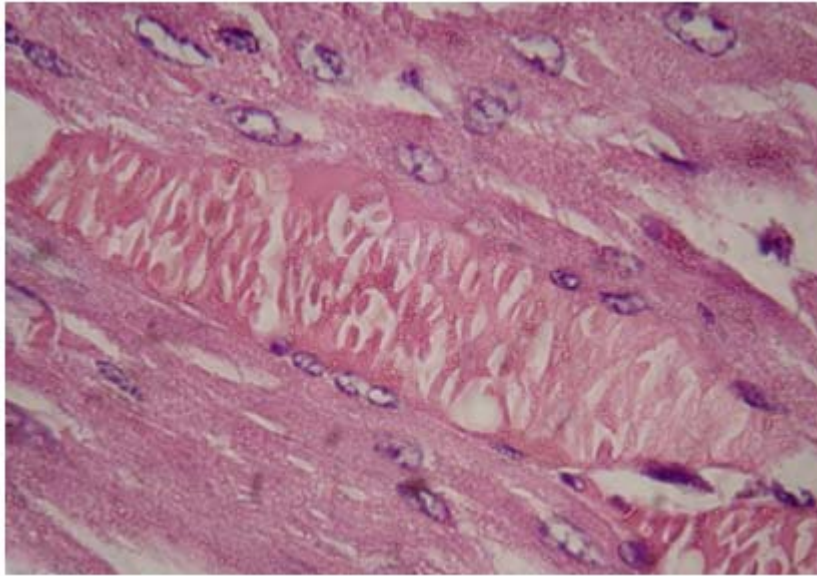


Figura 16. SECCIÓN DE TEJIDO CARDÍACO DE RATÓN NMRI, INYECTADO CON VENENO DE *Tityus nororientalis*, MOSTRANDO UN VASO SANGUÍNEO.

Se aprecia la disposición irregular de la cromatina nuclear, la degeneración de las fibras y la distensión de un vaso que muestra a su vez presencia de gránulos rojizos similares a los descritos en el citoplasma. H-E, 1000X

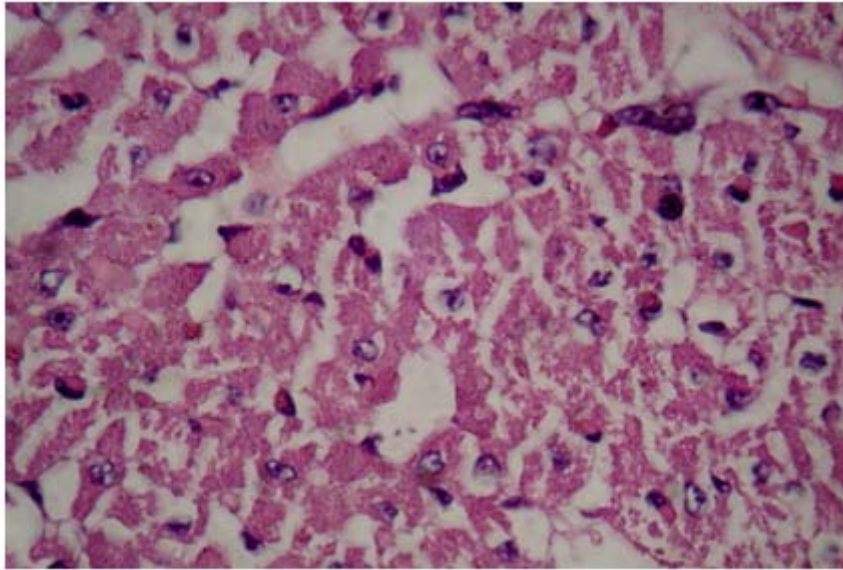


Figura 17. SECCIÓN DE TEJIDO CARDÍACO MOSTRANDO LAS FIBRAS CORTADAS TRANSVERSALMENTE DE RATÓN NMRI INYECTADO CON VENENO DE *Tityus nororientalis*.

Nótese la degeneración del tejido con pérdida total de sus características normales, pocas células muestran la integridad de su estructura. Edema importante. H-E, 1000X.

4.4 Descripción de los cambios histopatológicos causados por el veneno de *T. nororientalis* en tejido cardíaco de un ratón BALBc

El tejido del ratón BALBc, tratado con una DL₅₀ del veneno de *T. nororientalis*, se caracterizó por presentar un amplio rango de alteraciones en sus fibras (figura 18, 19, 20, 21). Las mismas en muchos casos mostraron un aumento del volumen citoplasmático (hinchadas), sin presencia de sus estriaciones características y núcleos bizarros (Figura 19, 20). En el espacio intersticial se observaron igualmente vasos sanguíneos dilatados. Como se puede apreciar en la figura 21, en la mayor parte de este tejido cardíaco del ratón BALBc, se perdió la citoarquitectura normal. Muchas fibras carecen de núcleos y estriaciones, caracterizándose como una masa amorfa (figura 20), mientras que otras se observan claras por la pérdida de sarcoplasma.

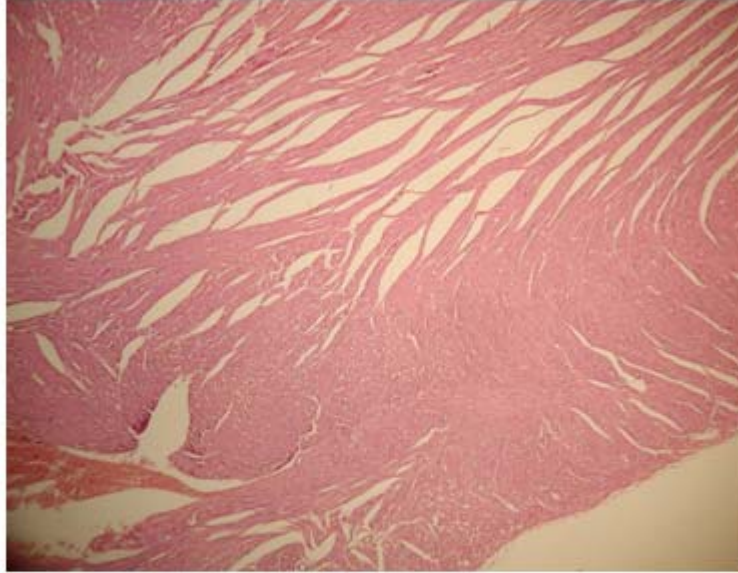


Figura 18. PANORAMICA DE TEJIDO CARDIACO DE RATON BALBc INYECTADO CON VENENO DE *Tityus nororientalis*. H-E, 40X.

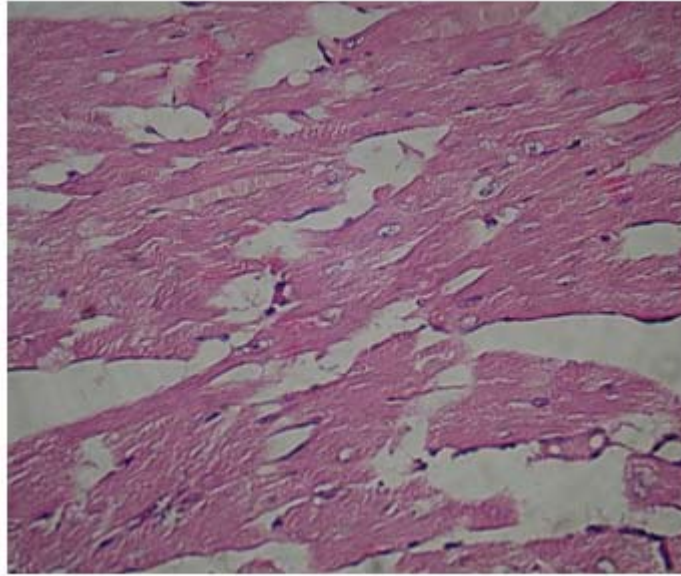


Figura 19. SECCIÓN DE TEJIDO CARDÍACO DE RATÓN BALBc INYECTADO CON VENENO DE *Tityus nororientalis*.

Apréciase la ruptura de los haces musculares y vasos sanguíneos. Así como la degeneración de las fibras. H-E, 400X.

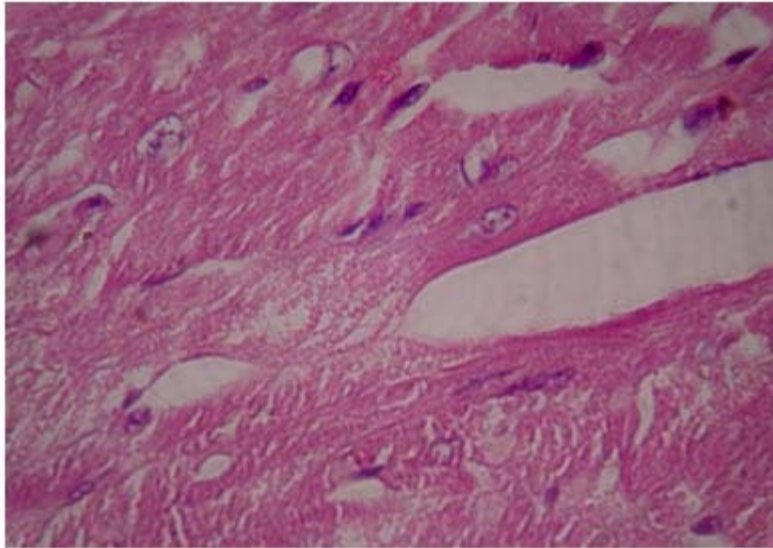


Figura 20. SECCIÓN DE TEJIDO CARDÍACO DE RATÓN BALBc INYECTADO CON VENENO DE *Tityus nororientalis*.

Esta figura nos muestra la degeneración de las fibras cardiacas con perdida de citoplasma y núcleos, y dilatación de los vasos sanguíneos. Apréciase los diferentes grados de degeneración nuclear. H-E, 1000X.

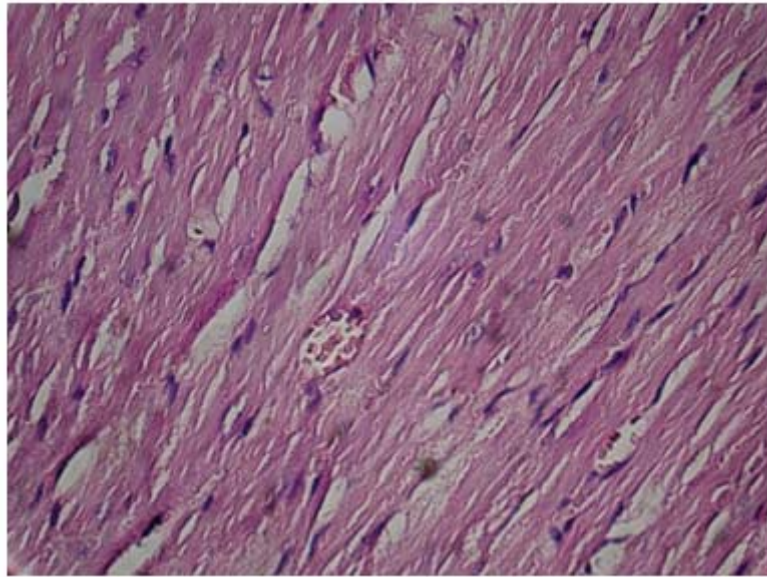


Figura 21. SECCIÓN DE TEJIDO CARDÍACO DE RATÓN BALBc INYECTADO CON VENENO DE *Tityus nororientalis*

Esta figura nos muestra la pérdida de la coloración normal debido a las alteraciones citoplasmáticas. Pocas fibras presentan aspecto normal. H-E, 400X.

4.5 Descripción de los cambios histopatológicos, causados por el veneno de *T. nororientalis*, en tejido cardiaco de un ratón C57BL/6

Similar a lo observado en los ratones BALBc, inyectados con una DL₅₀ de *T. nororientalis*, en el ratón de la cepa C57BL/6 se evidenciaron grandes cambios en la estructura microscópica del miocardio (figuras 22, 23, 24, 25). Amplias áreas de tejido cardiaco fueron sustituidas por un sincitio tisular con ausencia total de elementos histológicos compatibles con la normalidad del mismo. Las fibras muestran un aspecto hinchado, fragmentado, sin estriaciones y núcleos mostrando grandes alteraciones, vacuolizados unos y picnóticos otros (figuras 24, 25).

De igual manera fueron notables las alteraciones en las paredes de las pequeñas arterias (figuras 26, 27), en las mismas se notó degeneración de las fibras musculares, vacuolización en las capas íntima y media, mientras su contenido sanguíneo se caracterizó por claros signos de coagulación.

Las características morfológicas del tejido cardiaco degenerado observado en las tres cepas estudiadas son compatibles con una necrosis coagulativa, donde sus células (fibras) están convertidas en masas acidófilas, donde no se observan núcleos pero si mantienen su forma básica.

En ningunos de los casos estudiados se observó reacción inflamatoria.

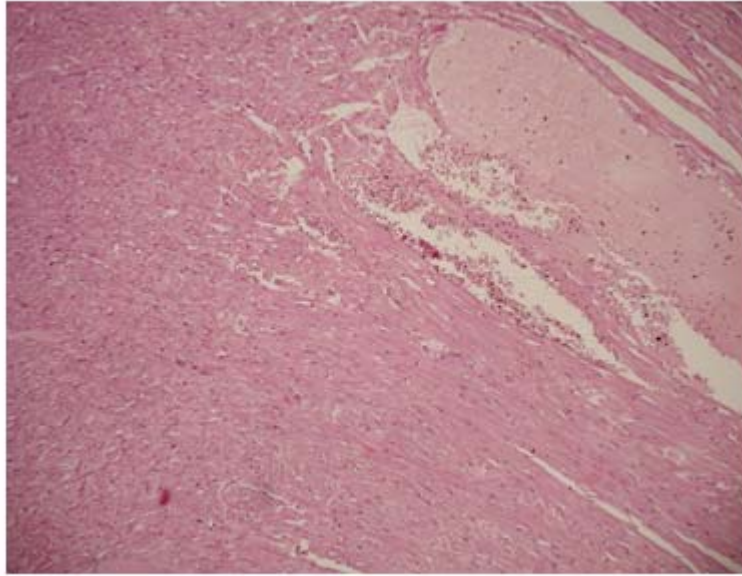


Figura 22. PANORÁMICA DE TEJIDO CARDÍACO DE UN RATÓN C57BL/6 INYECTADO CON VENENO DE *Tityus nororientalis*.

Gran degeneración del parénquima y congestión de los vasos sanguíneos. H-E, 250X.

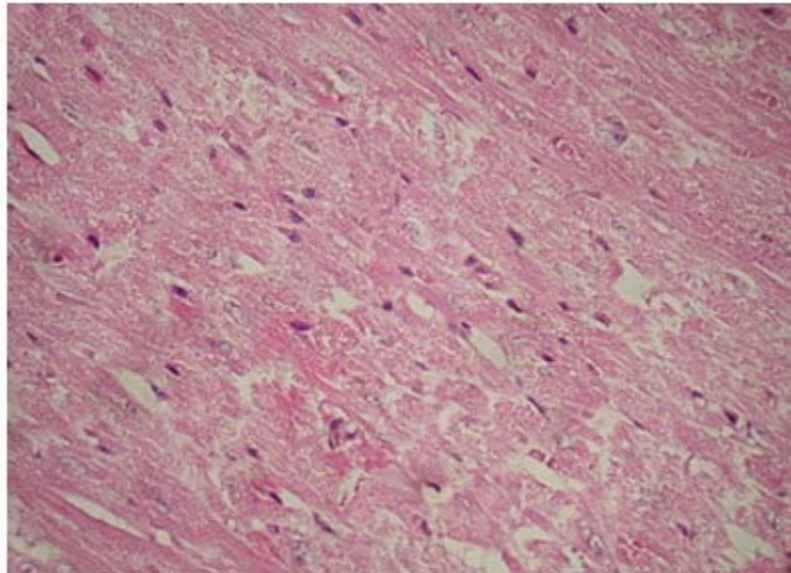


Figura 23. SECCIÓN DE TEJIDO CARDÍACO DE UN RATÓN C57BL/6 INYECTADO CON VENENO DE *Tityus nororientalis*.

Pérdida completa de la arquitectura celular del tejido cardíaco de un ratón C57BL/6 tratado con una DL₅₀ del veneno de *Tityus nororientalis*. H-E, 400X.

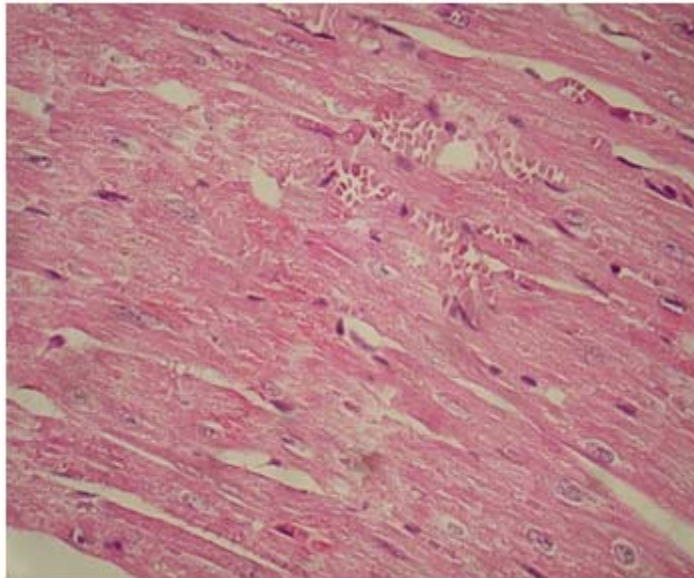


Figura 24. SECCIÓN DE TEJIDO CARDÍACO DE UN RATÓN C57BL/6 INYECTADO CON VENENO DE *Tityus nororientalis*.

Fibras cardíacas, vistas longitudinalmente, de aspecto claro, edematizadas, con fragmentación de su contenido citoplasmático y con pérdida de sus estriaciones. H-E, 400X.

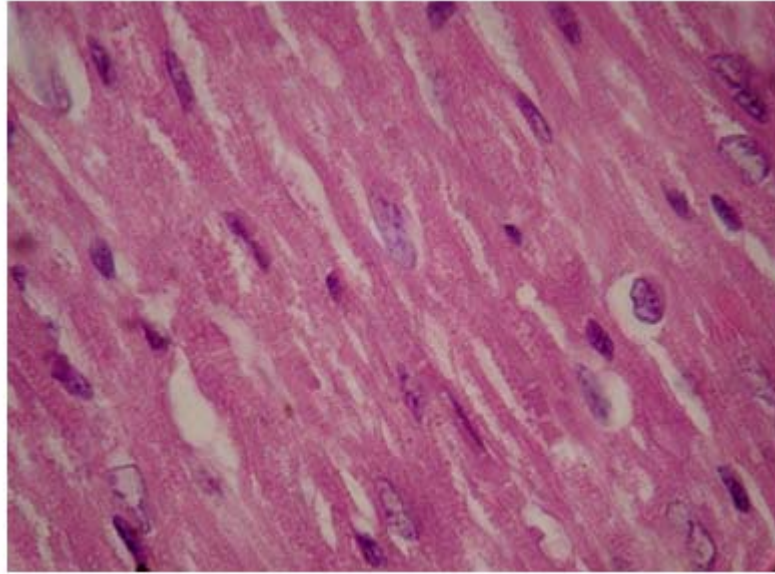


Figura 25. SECCIÓN DE TEJIDO CARDÍACO DE UN RATÓN C57BL/6 INYECTADO CON VENENO DE *Tityus nororientalis*.

Perdida de la estriación normal de las fibras cardiacas siendo sustituidas por un sarcoplasma fragmentado. Note3se el amplio rango de degeneración nuclear. Edema evidente. H-E, 1000X.

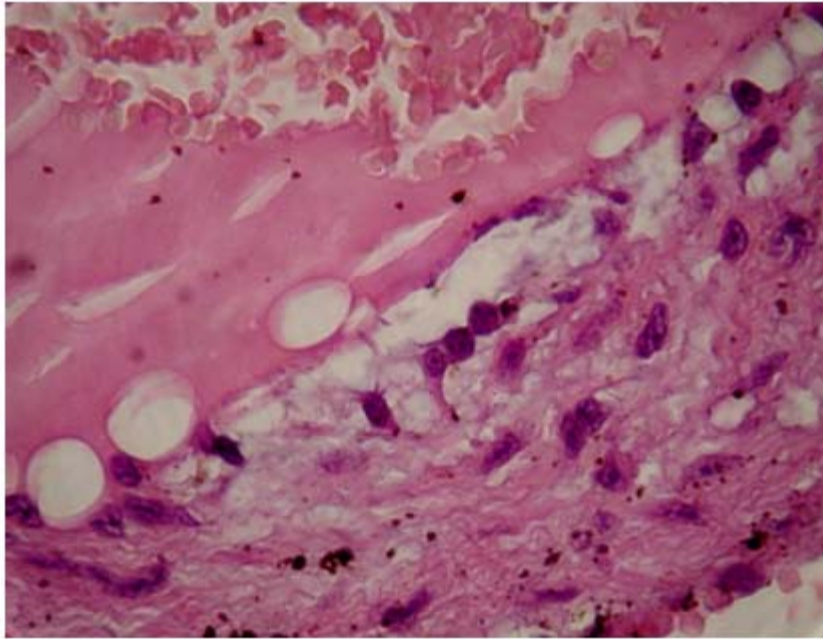


Figura 26. SEGMENTO DE LA PARED DE UNA PEQUEÑA ARTERIA EN TEJIDO CARDÍACO DE UN RATÓN C57BL/6, INYECTADO CON VENENO DE *Tityus nororientalis*.

Se aprecia degeneración de sus diferentes capas con presencia de una gran vacuolización que separa las fibras musculares entre si, así como la intima de la media. Nótese además las características del contenido sanguíneo.. H-E, 1000X.

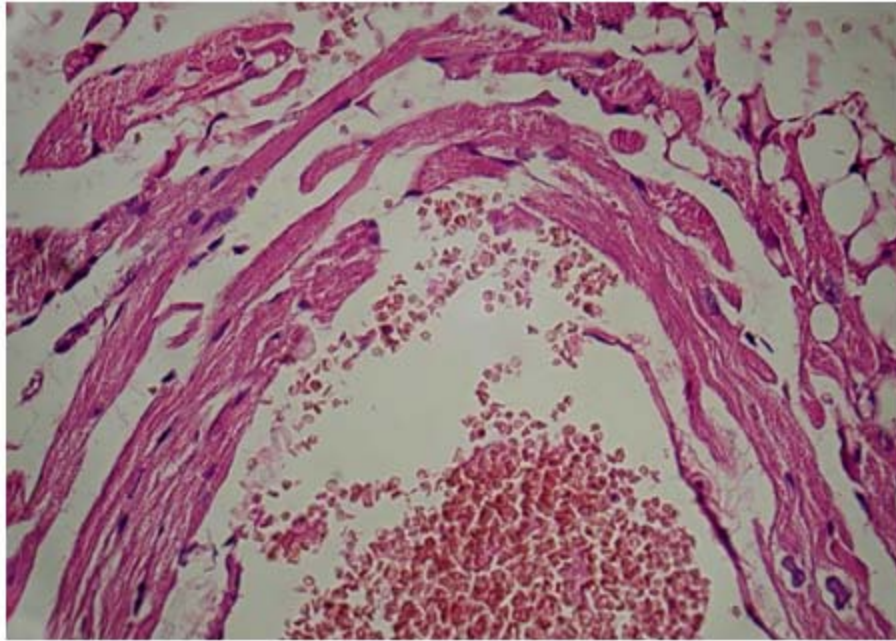


Figura 27. VISTA DE UNA ARTERIA OBSERVADA EN TEJIDO CARDIACO DE UN RATÓN C57BL/6, INYECTADO CON VENENO DE *Tityus nororientalis*.

Apréciense las rupturas de los haces musculares de la capa media y la ausencia de su capa endotelial. H-E, 1000X.

4.6 DISCUSION

4.6.1 Significación de *T. nororientalis* como especie de importancia médica en el Nororiente de Venezuela

Estudios epidemiológicos recientes han permitido establecer que las especies *T. zulianus*, *T. discrepans* y *T. nororientalis* son, respectivamente, los taxa responsables del mayor número de envenenamientos en las zonas Andina, Centro-Norte y Nor-oriental (Borges y De Sousa, 2006). En este trabajo se utilizó el veneno de una población de *T. nororientalis* capturada en la localidad de Las Melenas, municipio Mariño, estado Sucre. Investigaciones en curso demuestran, al presente, que es la especie con el mayor rango de ordenación territorial en el nororiente venezolano (De Sousa en preparación).

Al comparar el efecto del veneno de esta especie, inyectado por vía intraperitoneal, en ratones hembra de las cepas NMRI, BALBc y C57BL/6 y al evaluar el curso temporal de aparición de los signos, inducidos como efecto tóxico del envenenamiento agudo experimental; se pudo observar que independientemente del modelo murino, utilizado en este trabajo, los signos evaluados en los ratones envenenados son característicos de un cuadro neurotóxico agudo, el cual ya ha sido reportado clásicamente para otros escorpiones de importancia médica en Venezuela (Borges y De Sousa, 2006; De Sousa, 2006; Cova 2008, Da Camara y col., 2008; Hurtado y col., 2008; Sanquiz y González, 2008; De Sousa y col., 2009). Cova (2008) señala que el veneno de diferentes especies venezolanas de *Tityus* produce un síndrome específico que, aunque comparable en su naturaleza neurotóxica, es de magnitud y cinética exclusivas de cada taxón.

De la información disponible se deduce que el envenenamiento escorpiónico experimental es un complejo sindromático principalmente asociado a disfunción en los sistemas cardiorrespiratorio y nervioso (central y periférico) e inflamatorio (no evaluado en este trabajo) (Sofer y col. 1996, Voronon y col. 1999, Mazzei y col. 1997, 2002, Otero y col. 1998, 2004, Borç 46 De Sousa 2006, De Sousa y col. 2007); produciendo los signos y síntomas clásicos observados en el escorpionismo (humano, veterinario y experimental). Por lo tanto, los signos clínicos observados en cualquiera de los modelos utilizados (NMRI, BALBc y C57BL/6) son muy diversos y de tres tipos: (1) los colinérgicos postganglionares tanto muscarínicos como nicotínicos producto de la hiperestimulación del sistema nervioso parasimpático y que son predominantes sobre otros mecanismos, (2) los centrales que incluyen las convulsiones tónico-clónicas con base en transmisión colinérgica, (3) los del sistema motor y (4) las adrenérgicas postganglionares por hiperestimulación del simpático. Estos mecanismos coinciden con lo observado en humanos envenenados por especies de escorpiones del género *Tityus* en diferentes regiones endémicas de Venezuela y otros países de América del Sur (Borges y De Sousa, 2006), incluyendo Venezuela (De Sousa y col., 2000). Tal analogía valida el uso del modelo múrido para la estimación del efecto de venenos de escorpión procedentes de diferentes áreas endémicas en el país; modelo propuesto previamente en otros trabajos (Marcano y Mundaray, 2000, Marín y Rodríguez 2000, Boadas y Marcano 2004, Turkali 2004, De Sousa 2006, Cornejo 2008, Cova 2008, De Sousa y col. 2009).

4.6.2 Utilidad del modelo múrido para la evaluación del efecto del veneno de escorpiones de importancia médica en Venezuela

Hurtado y col. (2008) indicaron que el índice letal cincuenta, del veneno de *Tityus nororientalis*, fue significativamente menor en ratones C57BL/6 ($DL_{50} = 8,43 \mu\text{g} \times \text{g}^{-1}$ de ratón) que el obtenido en ratones hembra NMRI ($DL_{50} = 28,18 \mu\text{g} \times \text{g}^{-1}$ de ratón); y éste, menor que el obtenido en los BALBc ($DL_{50} = 40,07 \mu\text{g} \times \text{g}^{-1}$ de ratón); demostrando una mayor sensibilidad de C57BL/6 al efecto tóxico del veneno de esta especie. La relación DL_{50}/DL_{50} , entre las tres cepas, sugiere que ésta es 3,34 veces menor en C57BL/6 que en NMRI y 4,75 veces más reducida que en BALBc. Adicionalmente, demostraron que la frecuencia de presentación de algunos signos clínicos [contractura del dorso, taquipnea, hipotonía del tren posterior y disnea (bradipnea/apnea)] fue significativamente distinta entre las cepas NMRI y BALBc. Los autores indicaron que el espectro medio de toxicidad moderadamente grave y el de toxicidad grave es común para las tres cepas; el curso temporal demostró que el tiempo de muerte de los ratones, en los tres modelos, fue similar (ocuri alrededor de los 40 minutos); sin embargo, al comparar las tendencias existen varios signos que presentaron diferencias, entre ellas están: temblores generalizados, signo de Straub, secreción ocular, marcha atáxica y exoftalmos. El primero de presentación más tardía en BALBc que en NMRI y en C57BL/6; el segundo de instalación muy temprana (alrededor de los 5 minutos) en C57BL/6, la secreción ocular de exhibición más tardía en NMRI que en BALBc y en C57BL/6, la marcha atáxica de instalación más precoz en C57BL/6 (alrededor de los 5 minutos) que en BALBc (aproximadamente a los 10 minutos) y, este a su vez, menor que en NMRI (cercano a los 25 minutos). Por último, el exoftalmo de instalación precoz en C57BL/6 (10 minutos) en comparación con NMRI o BALBc (25 minutos). Por lo cual, los autores propone la utilidad de la cepa de ratones C57BL/6 como un excelente modelo funcional (de bioensayo) para evaluar los venenos de escorpiones venezolanos; incorporando nuevos elementos

clínicos y de ensayos de letalidad (acompañados del curso temporal de toxicidad aguda). Este trabajo ratifica los hallazgos anteriores y, en lo posible, los correlaciona con las alteraciones histopatológicas en el tejido muscular cardíaco evaluado en las tres cepas de ratones utilizados.

4.6.3 Cambios histopatológicos encontrados en corazón de ratones hembra de las cepas NMRI, BALBc y C57BL/6

El envenenamiento escorpiónico provoca signos y síntomas similares en diferentes mamíferos. En este estudio cada cepa de ratón inyectado con su respectiva DL_{50} mostró diversos cambios histopatológicos en tejido cardíaco en comparación con los controles. Las alteraciones fueron evidentes en cada uno de los componentes celulares y en la arquitectura general del tejido, coincidiendo con los estudios realizados con Fong y García (1994), quienes utilizando dosis subletales del veneno completo de *T. caripitensis*, en ratones albinos, observaron degeneración de las fibras miocárdicas acompañadas de congestión vascular.

En 1970 Yaron y Braum, en un estudio realizado en perros tratados con veneno de escorpión, administrado por vía intramuscular y endovenosa, encontraron en el miocardio de los mismos necrosis focal de las fibras musculares, celularidad intersticial y deposición precoz de gotitas de lípidos. Estos mismos autores un año después, en un nuevo estudio con perros tratados con veneno de escorpión observaron al microscopio electrónico cambios miocárdicos tales como edema intracelular, dilatación del sistema tubular y un tejido cardíaco en general caracterizado por grandes áreas de destrucción similares a los descritos en nuestra investigación, que atribuyeron a la acción de mecanismos metabólicos, miogénicos y hemodinámicas en la patogénesis del daño miocárdico.

Es importante mencionar que en la presente investigación se apreció en la cepa NMRI la presencia de gránulos rojizos, cuya naturaleza histoquímica no fue estudiada y que podían estar bien relacionadas con deposición de lípidos, como lo observado por Yaron y Braum en 1970.

Aun cuando los daños microscópicos encontrados en el miocardio de las diferentes cepas estudiadas en la presente investigación fueron similares, en apariencia, en las cepas homocigóticas (BALBc y C57BL/6) la necrosis celular fue más acentuada. Es posible que ello se deba a que la cepa BALBc recibió una mayor dosis de veneno inyectado ($40,07 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ de ratón) y la cepa C57BL/6 tenga una mayor sensibilidad ($8,43 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ de ratón) como fue indicado por Hurtado y col. (2008).

Como se puede apreciar en las figuras muchas de las fibras cardiacas conservan su forma pero carecen de núcleos y en sus sarcoplasmas no se observan las típicas estriaciones de las mismas dándoles un aspecto de masas acidofilas de desechos lo cual sugiere una necrosis coagulativa como ha sido planteado por otros autores,

Por otra parte, la dilatación y congestión vascular observadas en el miocardio de las cepas NMRI, BALBc y C57BL/6 ratifican hallazgos anteriores reportados entre otros por Watterman (1991), Devi y col. (1970), Reddy (1972) y Fong y García (1994) y los mismos han sido atribuidos a la posible acción de la histamina contenida en el veneno.

Es importante mencionar la ausencia de reacción inflamatoria en las cepas estudiadas a diferencia en lo reportados por otros autores (Fong y Gracia, 1994), pero tal hecho encuentra su explicación en la respuesta aguda del veneno en el tejido

cardíaco, lo cual no dio tiempo a una respuesta inmunológica a la venina del escorpión.

4.6.4 Alcances de los resultados y su contribución a la elaboración del mapa de letalidad de la escorpiofauna venezolana de importancia médica

De manera característica, el presente trabajo reconfirma que el síndrome del envenenamiento por escorpiones del género *Tityus* en vertebrados es especie-específico (Borges y col., 2004b, 2006a, Cova 2008); pero también supeditado de la cepa de ratón utilizada para evaluar la toxicidad de los venenos. Por lo cual, propone la utilidad de la cepa de ratones C57BL/6 como un excelente modelo funcional (de bioensayo) para evaluar los venenos de escorpiones venezolanos; incorporando nuevos elementos de evaluación histopatológica a los componentes clínicos y de ensayos de letalidad (acompañados del curso temporal de toxicidad aguda) al conjunto de evidencias moleculares, inmunológicas, bioquímicas y fisiológicas ya disponibles que indican que los venenos de estos artrópodos son altamente complejos relacionados, posiblemente, con sus variaciones estructurales (es decir de, su arquitectura molecular) y/o funcionales (esto es de su enlazamiento a canales iónicos voltaje-dependientes) sugeridas por Cova (2008), Da Camara y col. (2008) y Hurtado y col. (2008). Por lo pronto, vienen a reforzar los criterios que determinan la macroregión endémica de escorpionismo en la región Nororiental (De Sousa y col. 1995; 1996; 1997; 1999; 2005; 2006b; 2007) de Venezuela, y adicionalmente contribuye con la elaboración del mapa de letalidad de las especies de *Tityus* propuesto por Borges (1996) y, más recientemente, para una demarcación del país en “Provincias Toxinológicas” planteada por Borges y De Sousa (2006) para una comprensión integral del escorpionismo en el país.

CAPITULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 CONCLUSIONES

1. Las manifestaciones colinérgicas predominaron en el cuadro neurotóxico agudo.
2. La toxicidad experimental aguda parece ser dependiente de la cepa de ratón; ya que su severidad y el tiempo de aparición de las manifestaciones neurotóxicas parecen estar relacionadas a la susceptibilidad intrínseca de cada cepa de ratón al veneno de escorpión.
3. El veneno de *T. nororientalis* a una DL_{50} , dependiente de la cepa de ratón utilizada, produjo alteraciones histológicas en el miocardio de los ratones de experimentación.
4. Las alteraciones consistieron principalmente en degeneración de la fibra miocárdica, necrosis celular, congestión vascular, edema del tejido cardíaco, vacuolización y picnosis nuclear.
5. Se observaron cambios histopatológicos característicos en cada cepa: en la NMRI granulado de color rojizo tanto a nivel celular como intravascular, en la BALBc dilatación vascular en todos los casos estudiados y la cepa C57BL/6 fue la que mostró, en apariencia, mayor severidad en cuanto a la gran pérdida de la citoarquitectura de casi todo el tejido.
6. Las cepas homocigotas revelaron cambios histopatológicos de mayor severidad.

7. Las manifestaciones cardíacas se correlacionan con las diversas modificaciones histopatológicas que se pudieron encontrar en las distintas cepas.
8. No se observó reacción inflamatoria en ninguno de los cortes de corazón de ratones inyectados con veneno el veneno de *T. nororientalis*.
9. En los ratones utilizados como control no se evidenció ninguna alteración histopatológica.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Barona, J.; Otero, R. y Núñez, V. 2004. Aspectos toxicológicos e inmunoquímicos del veneno de escorpión *Tityus pachyurus* pocock de Colombia: Capacidad neutralizante de anti venenos producido en Latinoamérica. *Biomédica*, 24: 43-49.
2. Barona, J.; Batista, C.; Zamudio, F.; Gómez-Lagunas, F.; Wanke, E.; Otero, R. y Possani, L. 2006. Proteomic analysis of the venom and characterization of toxins specific for Na⁺ and K⁺ channels from the Colombian scorpion *Tityus pachyurus*. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1764: 76-84.
3. Becerril, B.; Corona, M.; García, C.; Bolívar, L. y Possani, L. 1995. Cloning of genes encoding scorpion toxins: an interpretative review. *Journal of Toxicology and Toxins Review*, 14: 339 – 357.
4. Becerril, B.; Marangoni, S. y Possani, L. 1997. Toxins isolated from scorpions of the genus *Tityus*. *Toxicon*, 35: 821-835.
5. Biondi-Queiroz, I.; García-Santana, V. y Rodrigues, D. 1996. Estudio retrospectivo do escorpionismo na Região Metropolitana de Salvador (RSM)-Bahia, Brasil. *Sitientibus*, 15: 273-285.
6. Boadas, J. y Marcano, J. 2004. Cuantificación del volumen, cantidad de proteínas y evaluación de la toxicidad del veneno de *Rhopalurus laticauda* (Scorpiones: Buthidae). Trabajo de Pregrado, Departamento de Ciencias Fisiológicas, Universidad de Oriente, Barcelona.

7. Borges, A. 1996. Escorpionismo en Venezuela. *Acta Biológica Venezuelica*, 16: 65-75.
8. Borges, A. y De Sousa, L. 2006. Escorpionismo en Venezuela: una aproximación molecular, inmunológica y epidemiológica para su estudio. *Revista de la Facultad de Farmacia (UCV)*, 69: 15-27.
9. Borges, A. y Rojas-Runjaic, F. 2007. *Tityus perijanensis* González-Sponga (Scorpiones: Buthidae): Molecular assessment of its geographical distribution and venom lethality of Venezuelan populations. *Toxicon*, 50: 1005-1010.
10. Borges, A.; Arantes, E. y Gilglio, J. 1990. Isolation and characterization of toxic proteins from the venom of the Venezuela scorpion *Tityus discrepans* (Karsch). *Toxicon*, 28: 1011-1017.
11. Borges, A.; Tsushima, R. y Backx, P. 1999. Antibodies against *Tityus discrepans* venom do not abolish of *Tityus serrulatus* venom on the rat sodium and potassium channels. *Toxicon*, 37: 868-881.
12. Borges, A.; Arandía, J.; Colmenares-Árias, Z.; Vargas, A. y Alfonso, M. 2002. Caracterización epidemiológica y toxicológica del envenenamiento por *Tityus zulianus* (Scorpiones, Buthidae) en el estado Mérida, Venezuela. *Revista Facultad de Medicina (UCV)*, 25: 76-79.
13. Borges, A.; Trejo, E.; Vargas, A.; Céspedes, G.; Hernández, A. y Alfonso, M. 2004a. Pancreatic toxicity in mice induced by *Tityus zulianus* and *Tityus discrepans* scorpion venom. *Investigacion Clínica*, 45: 269-276.

14. Borges, A.; Alfonzo, M.; García, C.; Winand, N.; Leipold, E. y Heinemann, S. 2004b. Isolation, molecular cloning and functional characterization of a novel B-toxin from the Venezuelan scorpion, *Tityus zulianus*. *Toxicon*, 43: 671-684.
15. Borges, A.; De Sousa, L. y Manzanilla, J. 2006a. Description of a New *Tityus* species (Scorpiones: Buthidae) from Sierra de Portuguesa, western Venezuela, based on morphological and mitochondrial DNA evidence. *Zootaxa*, 1107: 49-68.
16. Borges, A.; García, C.; Lugo, E.; Alfonzo, M.; Jowers, M. y Op den Camp, H. 2006b. Diversity of long-chain toxins in *Tityus zulianus* and *Tityus discrepans* venoms (Scorpiones: Buthidae): Molecular, immunological, and mass spectral analyses. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 142: 240-252.
17. Borges, A.; De Sousa, L.; Espinoza, J.; Santos, R.; Valadares, D. y Chávez-Olórtegui, C. 2008. Characterization of *Tityus* scorpion venoms using synaptosome binding assays and reactivity towards Venezuelan and Brazilian antivenoms. *Toxicon*, 51: 66-79.
18. Cornejo, P. 2008. Registro de *Tityus tenuicauda* Prendini, 2001 (Scorpiones, Buthidae) para Venezuela. Aspectos farmacológicos de su veneno. Trabajo de *Magíster Scientiarium*, Postgrado en Biología Aplicada, Universidad de Oriente, Cumaná.
19. Cova, Y. 2008. Evaluación de la actividad biológica del veneno de tres especies venezolanas de importancia médica del género *Tityus* (Scorpiones, Buthidae). Trabajo de Pregrado, Departamento de Bioanálisis, Universidad de Oriente, Cumaná.

20. D'Suze, G.; Sevcik, C. y Ramos, M. 1995. Presence of curarizing polypeptides and a pancreatitis-inducing fraction without muscarinic effects in the venom of the Venezuelan scorpion *Tityus discrepans* (Karsch). *Toxicon*, 33: 333-345.
21. Da Cámara, N.; Rivas, R. y Rojas, P. 2008. Evaluación de la actividad biológica y dosis letal cincuenta (DL₅₀) del veneno de *Tityus nororientalis* (Scorpiones, Buthidae) en ratones NMRI. Trabajo de Pregrado, Departamento de Ciencias Fisiológicas, Universidad de Oriente, Barcelona.
22. Devi, C. S.; Reddy, C. N.; Devi, S. L.; Subrahmanyam, Y-R.; Bhatt, H. V; Suvarnakumari G.; Murthy D. P.; Reddy, C. R. 1970. Defibrinaction syndrome due to scorpion venom poisoning. *British Medical Journal*, 1: 345-347.
23. De Los Ríos, M. 2006. Alacranes con hábitos de invasión del ambiente antrópico depositados en la Colección de Escorpiones del Centro de Investigaciones en Ciencia de la Salud. Trabajo de Pregrado, Departamento de Ciencias Fisiológicas, Universidad de Oriente, Barcelona.
24. De Sousa, L. 2006. Especie de *Tityus* (Scorpiones, Buthidae) de la serranía del Turimiquire, nororiente de Venezuela. Caracterización morfológica, geográfica y toxinológica. Trabajo de Ascenso a Profesor Asociado, Departamento de Ciencias Fisiológicas, Universidad de Oriente, Barcelona.
25. De Sousa, L.; Kiriakos, D.; Jiménez, J.; Michelli, D.; Rodríguez, C.; Mirabal, J. y Quiroga, M. 1995. Accidente cerebrovascular isquémico por emponzoñamiento escorpiónico: observación clínica. *Saber*, 7: 7-14.

26. De Sousa, L.; Bónoli, S.; Quiroga, M. y Parrilla, P. 1996. Scorpion sting in Montes Municipality of the State of Sucre, Venezuela: geographic distribution. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 38: 147-152.
27. De Sousa, L.; Parrilla, P.; Tillerio, L.; Valdivieso, A.; Ledezma, E.; Jorquera, A. y Quiroga, M., 1997. Scorpion poisoning in the Acosta and Caripe counties of Monagas State, Venezuela. Part I: characterization of some epidemiological aspects. *Cadernos de Saúde Pública*, 13: 45-51.
28. De Sousa, L.; Bónoli, S.; Parrilla-Álvarez, P.; Ledezma, E.; Jorquera, A. y Quiroga, M. 1999. The proposal of a new endemic macroregion for scorpionism in Venezuela. *Journal of Venomous Animals and Toxins*, 5: 111.
29. De Sousa, L.; Parrilla-Álvarez, P. y Quiroga, M. 2000. An epidemiological review of scorpion sting in Venezuela. The northeastern region. Review article. *Journal of Venomous Animals and Toxins*, 6: 127-165.
30. De Sousa, L.; Vázquez, D.; Salazar, D.; Valecillos, R.; Vázquez, D.; Rojas, M.; Parrilla-Álvarez, P. y Quiroga, M. 2005. Mortalidad en humanos por envenenamientos causados por invertebrados y vertebrados en el estado Monagas. *Investigación Clínica*, 46: 246-254.
31. De Sousa, L.; Manzanilla, J. y Parrilla-Álvarez, P. 2006. Nueva especie de *Tityus* (Scorpiones: Buthidae) del Turimiquire, Venezuela. *Revista de Biología Tropical*, 54: 489-504.
32. De Sousa, L.; Boadas, J.; Kiriakos, D.; Borges, A.; Boadas, J.; Marcano, J.; Turkali, I. y De Los Ríos, M. 2007a. Scorpionism due to *Tityus neoespartanus*

- (Scorpiones, Buthidae) in Margarita Island, northeastern Venezuela. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 40: 681-685.
33. De Sousa, L.; Manzanilla J. y Cornejo-Escobar P. 2007b. Depredación sobre serpiente colúbrida por *Latrodectus* cf. *geometricus* Koch, 1841 (Araneae: Theridiidae). *Ciencia*, 15: 410-412.
34. De Sousa, L.; Borges, A.; Manzanilla, J.; Biondi, I. y Avellaneda, E. 2008a. Second record of *Tityus bahiensis* from Venezuela: Epidemiological implications. *Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases*. 14: 170-177.
35. De Sousa, L.; Manzanilla, J.; Borges, A.; Cornejo-Escobar, P. y Gregoriani, T. 2008b. Discovery and description of the male of *Tityus uquirensis* (Scorpiones: Buthidae) from Paria Peninsula, northeastern Venezuela. *Zootaxa*, 1828: 57-68.
36. De Sousa, L.; Parrilla-Álvarez, P.; Pérez Di Gaeta, P.; Romero, L. y Quiroga, M. 2009. Evaluación de la actividad biológica del veneno de *Tityus gonzalespongai* (Scorpiones, Buthidae) en el modelo C57BL/6. *Saber*, 21: Aceptado.
37. Dehesa-Dávila, M. 1989. Epidemiological characteristics of scorpion sting in Leon, Guanajuato, Mexico. *Toxicon*, 27: 281-285,
38. Díaz, R.; Obregón, D. y Romero, A. 2005. Distribución y ecología de *Tityus nororientalis* (Scorpiones, Buthidae) en los estados Anzoátegui, Monagas y Sucre. Notas sobre su historia natural. Trabajo de Grado para optar al Título

de Bachiller en Ciencias, Cátedra de Metodología de la Investigación, Colegio Juan Jacobo Rousseau, Puerto La Cruz.

39. Dixon, W. y Mood, A. 1948. A method for obtaining and analyzing sensitivity data. *Journal of the American Statistical Association*, 43: 109-126.
40. Fermín, A. y Quintero, D. 1996. Alteraciones histopatológicas causadas por el veneno de escorpión *Tityus caripitensis* (Buthidae) sobre pulmón de ratones albinos. Trabajo de Pregrado, Departamento de Ciencias Fisiológicas, Universidad de Oriente, Ciudad Bolívar.
41. Fet, V. y Lowe, G. Family Buthidae C., Koch, 1837. In Fet, V.; Sissom, W.; Lowe, G. & Braunwalder, M. (Eds). 2000. *Catalog of the Scorpions of the World (1758-1998)*. New York Entomological Society, New York, pp. 54-286.
42. Fong, M. y García, Z. 1994. Alteraciones histopatológicas por emponzoñamiento escorpiónico en miocardio de ratones. Trabajo de Pregrado, Departamento de Ciencias Fisiológicas, Universidad de Oriente, Ciudad Bolívar.
43. Gómez, J. y Otero, R. 2007. Ecoepidemiología de los escorpiones de importancia médica en Colombia. *Revista de la Facultad Nacional de Salud Pública*, 25: 50-60.
44. Gómez, J.; Otero, R.; Núñez, V.; Saldarriaga, M.; Díaz, A. y Velásquez, M. 2002. Aspectos toxinológicos, clínicos y epidemiológicos del envenenamiento producido por el escorpión *Tityus fuhrmanni* Kraepelin. *MEDUNAB*, 5: 159-165.

45. González-Sponga, M. 1996a. *Guía para identificar escorpiones de Venezuela* Cuaderno Iagoven. Caracas.
46. González-Sponga, M. 1996b. Arácnidos de Venezuela: seis nuevas especies del género *Tityus* y redescipción de *Tityus pococki* Hirts, 1907, *Tityus rugosus* (Schekel, 1932) *n. comb.* y *Tityus nematochirus* Mello-Leitão, 1940 (Scorpionida: Buthidae). *Acta Biologica Venezuelica*, 16: 1-38.
47. Glantz, S. 2002. *Primer of Biostatistics*, 5th edición, Mc Graw- Hill.
48. Hurtado, A.; Montaña, L. y Rodríguez, F. 2008. Comparación de la actividad biológica y dosis letal cincuenta del veneno de *Tityus nororientalis* (Scorpiones, Buthidae) en ratones albinos de las cepas NMRI y BALBc. Trabajo de Pregrado, Departamento de Ciencias Fisiológicas, Universidad de Oriente, Barcelona.
49. Harvey, A.; Bradley K.; Cochran, S.; Rowan, E.; Pratt, J.; Quilleferldt, J. y Jerusalinsky, D. 1998. What can toxins tell us for drugs discovery. *Toxicon*, 36: 1635-1640.
50. Illanes, A. 1981. Farmacología de los venenos de escorpión. Trabajo de Ascenso a Profesor Titular. Departamento de Ciencias Fisiológicas, Universidad de Oriente, Barcelona.
51. Kiriakos, D.; Núñez, P.; Parababire, Y.; García, M.; Medina, J. y De Sousa, L. 2008. First report of human Latrodectism in Venezuela. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 42: 202-204,

52. Leipold, E.; Hansel, A.; Borges, A. y Heinemann, S. 2006. Subtype specificity of scorpion β -toxin Tz1 interaction with voltage-gated sodium channels is determined by the pore loop of domain-3. *Molecular Pharmacology*, 70: 340-347.
53. Lourenço, W. y Cuellar, O. 1995. Scorpions, scorpionism, life history strategies and parthenogenesis. Review article. *Journal of Venomous Animals and Toxins*, 1: 51-62.
54. Lourenço, W. y Bruehmüller-Ramos, E. 2004. New considerations on the status of *Tityus magnimanus* Pocock, 1897 (Scorpiones: Buthidae) and description of a new species of *Tityus* from the state of Roraima, Brazil. *Revista Ibérica de Aracnología*, 10: 285-291.
55. Lourenço, W.; Cloudsley-Thompson, J.; Cuéllar O.; von Eickstedt, V.; Barraviera, B. y Knox, M. 1996. The evolution of scorpionism in Brazil in recent years. *Journal Venomous Animals Toxins*, 2: 121-134.
56. Lugo, G. y Urbaneja, X. 2007. Efectos histopatológicos agudos del veneno de escorpión (Buthidae: *Tityus caripitensis*) en páncreas de ratones. Trabajo de Pregrado, Departamento de Ciencias Fisiológicas, Universidad de Oriente, Ciudad Bolívar.
57. Manzanilla, J. y De Sousa, L. 2003. Ecología y distribución de *Rhopalurus laticauda* Thorell, 1876 (Scorpiones: Buthidae) en Venezuela. *Saber (Revista del Consejo de Investigación de la Universidad de Oriente)*, 15: 3-14.

58. Manzanilla, J.; De Sousa, L.; Quiroga, M.; López, H. y Parrilla-Álvarez, P. 2002. Morfología externa de *Rhopalurus laticauda* (Scorpiones: Buthidae). *Saber (Universidad de Oriente, Venezuela)*, 14: 94-102.
59. Marcano, M. y Mundaray, J. 2000. Toxicidad aguda y evaluación de la Dosis Letal Cincuenta (DL₅₀) en ratones C57BL/6 inducida por el veneno de una nueva especie del género *Tityus* (*Tityus* n. sp. 1.) del estado Monagas. Trabajo de Pregrado, Departamento de Ciencias Fisiológicas, Universidad de Oriente, Barcelona.
60. Marín, D. y Rodríguez, A. 2000. Toxicidad aguda y evaluación de la Dosis Letal Cincuenta (DL₅₀) en el modelo murino C57BL/6 inducida por el veneno de *Tityus* sp. de Sabana de Piedra, estado Monagas. Trabajo de Pregrado, Departamento de Ciencias Fisiológicas, Universidad de Oriente, Barcelona.
61. Mazzei de Dávila, C.; Parra, M.; Fuenmayor, A.; Salgar, N.; González, Z. y Dávila, D. 1997. Scorpion envenomation in Mérida, Venezuela. *Toxicon*, 35: 1459-1462.
62. Mazzei de Dávila, C.; Dávila, D.; Donis, J.; Arata-Bellabarba, G.; Villarreal, V. y Barboza, L. 2002. Sympathetic nervous system activation, antivenin administration and cardiovascular manifestations of scorpion envenomation. *Toxicon*, 40: 1339-1346.
63. Mejias-R, R.; Yáñez, C.; Árias, R.; Mejias-R, R.; de Árias, Z. y Luna, J. 2007. Ocurrencia de escorpionismo en los distritos sanitarios del estado Mérida. *Investigación Clínica*, 48: 147-153.

64. Mota, J.; Ghersy de Nieto, M.; Bastardo, M.; Rodríguez, J.; Duque, L. y Freytez, L. 1994. Emponzoñamiento escorpiónico: clínica y laboratorio usando antivenina. *Boletín del Hospital de Niños (Caracas)*, 30: 35–40.
65. Otero, R.; Uribe, F. y Sierra, A. 1998. Envenenamiento escorpiónico en niños. *Actualizaciones Pediátricas*, 8: 88-92.
66. Otero, R.; Navio, E.; Céspedes, F.; Núñez, M.; Lozano, L.; Moscoso, E.; Matallana, C.; Arsuza, N.; García, J.; Fernández, D.; Rodas, J.; Rodríguez, O.; Zuleta, J.; Gómez, J.; Saldarriaga, M.; Quintana, J.; Núñez, V.; Cárdenas, S.; Barona, J.; Valderrama, R.; Paz, N.; Díaz, A.; Rodríguez, O.; Martínez, M.; Maturana, R.; Beltrán, L.; Mesa, M.; Paniagua, J.; Flórez, E. y Lourenço, W. 2004. Scorpion envenoming in two regions of Colombia: clinical, epidemiological and therapeutic aspects. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 98: 742-750.
67. Parrilla-Álvarez, P. 1999. Caracterización inmunológica parcial del veneno y toxoide de escorpiones venezolanos del género *Tityus*. Trabajo de *Magíster Scientiarium*, Centro de Estudios Avanzados, Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas, Caracas.
68. Porras, J.; Rosillo-González, M. y Guirado-Pastor, M. 1994. Escorpionismo por *Tityus discrepans*. Estudio retrospectivo 1983-1986. *Archivos Venezolanos de Pediatría y Puericultura*, 57: 98-105.
69. Portillo, A.; Sojo, I. y Zerpa, J. 1996. Alteraciones histopatológicas causadas por el veneno del escorpión *Tityus caripitensis* (Familia: Buthidae) sobre hígado y riñón de ratón. Trabajo de Pregrado, Departamento de Ciencias Fisiológicas, Universidad de Oriente, Ciudad Bolívar.

70. Possani, L.; Becerril, B.; Delepierre, M. y Tytgat, J. 1999. Scorpion toxins specific for Na⁺-channels. *European Journal of Biochemistry*, 264: 287-300.
71. Prendini, L. y Wheeler, W. 2005. Scorpion higher phylogeny and classification, taxonomic anarchy, and standards for peer review in online publishing. *Cladistics*, 21: 446-494.
72. Quiroga, M.; Illanes, A.; González, A. y Jaramillo, E. 1982. Mantención de escorpiones en el laboratorio, Orden Scorpionida, Buthidae, *Rhopalurus laticauda* (Thorell, 1876). Influencia de la alimentación. *Acta Científica Venezolana*, 33: 502-508.
73. Reddy, C. R.; Suyarnakumary, G.; Devi, C. S. y Reddy, C. N. 1972. Pathology of scorpion venom Poisoning. *Journal of Tropical medicine and Hygiene*, 75: 98-100.
74. Rojas-Runjaic, F. y De Sousa, L. 2007. Catálogo de los escorpiones de Venezuela (Arachnida: Scorpiones). *Boletín de la Sociedad Entomológica Aragonesa*, 40: 281-307.
75. Saldarriaga, M. y Otero, R. 2000. Los Escorpiones: aspectos ecológicos, biológicos y toxinológicos. *Med-UNAB*, 3: 17-23.
76. Sanquíz, M. y González, Z. 2008. Evaluación de la actividad biológica del veneno de *Tityus nororientalis* en ratones de la cepa BALB/c. Trabajo de Grado para optar al Título de Bachiller en Ciencias, Cátedra de Metodología de la Investigación, Colegio Nuestra Señora de Lourdes, Puerto La Cruz.

77. Sevcik, C. 1987. DL₅₀ determinations: Objections to the method of Beccari as modified by Molinengo. *Toxicon*, 25: 779-783.
78. Sofer, S.; Gueron, M.; White, R.; Lifshitz, M. y Apte, N. 1996. Interleukin-6 release following scorpion sting in children. *Toxicon*, 34: 389-392.
79. Spirandeli-Cruz, E. 1999. Biología dos Escorpioes. En: *Venenos: Aspectos clínicos y terapêuticos dos acidentes por Animais Peçonhentos*. Barraviera, B. (Ed.). EUPB/Editora de Publicações Biomédicas, Rio de Janeiro. Pp. 135-150.
80. Tsushima, R.; Borges, A. y Backx, P. 1999. Inactivated state dependence of sodium channel modulation by B-scorpion toxin. *European Journal of Physiology (Pflügers Archives)*, 437: 661-668.
81. Turkali, I. 2004. Evaluación de la actividad biológica del veneno de *Tityus nororientalis* (Scorpiones, Buthidae) de Alto Llano, municipio Sotillo, estado Anzoátegui. Trabajo de Pregrado, Departamento de Ciencias Fisiológicas, Universidad de Oriente, Barcelona.
82. Voronov, E. ; Apte, N. y Sofer, S. 1999. The systemic inflammatory response syndrome related to the release of cytokines following severe envenomation. *Journal of Venomous Animals and Toxins*, 5: 5-3.
83. Waterman, J. A. 1991. Some notes on scorpion poisoning in Trinidad. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 31(c): 670-674.
84. Yarom, R. y Braun, K. 1970. Cardiovascular effect of scorpion venom, morphological changes in the myocardium. *Toxicon* 8: 41-46.

85. Yarom, R. y Braun, K. 1971. Electron microscopic studies of the myocardial changes produced by scorpion venom infection in dog. *Laboratory Investigation*, 24(1): 21.

HOJA DE METADATOS PARA TESIS Y TRABAJOS DE ASCENSO

Título	CAMBIOS HISTOPATOLÓGICOS AGUDOS CAUSADOS POR EL VENENO DE <i>Tityus nororientalis</i> (SCORPIONES, BUTHIDAE) EN MIOCARDIO DE RATONES NMRI, BALBc Y C57BL/6
Subtítulo	

Autor(es)

Apellidos y Nombres	Código CVLAC / e-mail	
Albornoz Bermúdez, Emir Javier	CVLAC	17.419.723
	e-mail	emiralbornoz@hotmail.com
	e-mail	
Cedeño Parao, Olga Rebeca	CVLAC	16.253.467
	e-mail	rebeca2008@hotmail.com
	e-mail	
Pereira Rivero, María Alejandra	CVLAC	17.446.724
	e-mail	mariales_1007@hotmail.com
	e-mail	

Palabras o frases claves:

<i>Tityus nororientalis</i> , veneno, toxicidad aguda, histopatología, miocardio, ratones NMRI, BALBc, C57BL/6

HOJA DE METADATOS PARA TESIS Y TRABAJOS DE ASCENSO

Líneas y sublíneas de investigación:

Área	Subárea
Escuela de Ciencias de la Salud	Medicina
	Toxinología
	Farmacología
	Histopatología

Resumen (abstract):

Luego de la exposición, durante sesenta minutos, al tratamiento conformado por una DL_{50} del veneno de *Tityus nororientalis*, como dosis controlada, en ratones hembra de las cepas de NMRI, BALBc y C57BL/6, se obtuvo una frecuencia de 50% ($n = 2$) de sobrevivencia, para cada una de las cepas evaluadas. El curso temporal de aparición de los signos de toxicidad aguda experimental inducida por el veneno en todos los casos se inició con hiperactividad seguida de sialorrea escasa y posteriormente piloerección. En el espectro medio de toxicidad, moderadamente grave (común para las tres cepas), ocurrió sialorrea abundante, temblores generalizados (de presentación más tardía en BALBc), defecación pastosa, convulsiones y signo de Straub (instalación más temprana en C57BL/6); seguidamente bradipnea/apnea e hipotonía del tren anterior (de aparición más temprana en BALBc y en C57BL/6) y finalmente la muerte o sobrevivencia de los animales. Un ratón sobreviviente, de cada cepa, fue elegido al azar para evaluar los cambios histopatológicos en tejido miocárdico causados como efecto tóxico del veneno de *T. nororientalis* sobre corazón. Los ratones NMRI tratados con veneno de *T. nororientalis* presentaron grandes alteraciones del parénquima cardíaco con necrosis celular y gran congestión vascular. Las fibras mostraron degeneración de sus citoplasmas y núcleos. Los citoplasmas se observaron fragmentados con pérdida de sus estriaciones y con la presencia de estructuras de aparición granular, de color rojizo, el cual, además, se observó en menor cuantía en los vasos sanguíneos. La cepa BALBc igualmente presentó un tejido cardíaco con grandes alteraciones histológicas. Sus fibras en muchas áreas se observaron hinchadas, anucleadas y en otras áreas se notaron con aspecto claro debido a la pérdida de sus estriaciones. Se observó una dilatación y congestión vascular acentuada. En la cepa C57BL/6 se observaron grandes cambios de la estructura normal con ausencia de los elementos histológicos normales en muchas áreas. Las fibras presentaron alteraciones en núcleos y citoplasmas. De los resultados histológicos se concluye que todas las cepas estudiadas fueron severamente afectadas por la acción del veneno, provocando degeneración de las fibras miocárdicas, necrosis celular y congestión vascular. La granulación rojiza solamente fue observada en las cepas NMRI. Las cepas homocigóticas (BALBc y C57BL/6) mostraron una aparente mayor afectación. No se observó respuesta inflamatoria.

HOJA DE METADATOS PARA TESIS Y TRABAJOS DE ASCENSO

Contribuidores:

Apellidos y Nombres	ROL / Código CVLAC / e-mail	
Maria Josefina Moreno de Marval	ROL	C <input type="checkbox"/> A <input checked="" type="checkbox"/> T <input type="checkbox"/> J <input type="checkbox"/> A <input type="checkbox"/> S <input checked="" type="checkbox"/> U <input type="checkbox"/> U <input type="checkbox"/>
	CVLAC	1.195.066
	e-mail	
	e-mail	
Miguel Flautes	ROL	C <input type="checkbox"/> A <input type="checkbox"/> T <input type="checkbox"/> J <input type="checkbox"/> A <input type="checkbox"/> S <input type="checkbox"/> U <input type="checkbox"/> U <input checked="" type="checkbox"/>
	CVLAC	5.485.193
	e-mail	
	e-mail	
Demetrio Kiriakos	ROL	C <input type="checkbox"/> A <input type="checkbox"/> T <input type="checkbox"/> J <input type="checkbox"/> A <input type="checkbox"/> S <input type="checkbox"/> U <input type="checkbox"/> U <input checked="" type="checkbox"/>
	CVLAC	5.698.723
	e-mail	
	e-mail	

Fecha de discusión y aprobación:

Año Mes Día

2008	04	17
-------------	-----------	-----------

Lenguaje: spa _____

HOJA DE METADATOS PARA TESIS Y TRABAJOS DE ASCENSO

Archivo(s):

Nombre de archivo	Tipo MIME
TESIS.Tityus.histopatología.doc	Application/Word

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

Alcance:

Espacial: Centro de Investigaciones en Ciencia de la Salud

Temporal:

Título o Grado asociado con el trabajo:

Médico Cirujano

Nivel Asociado con el Trabajo: Pre Grado

Área de Estudio:

Dpto de Medicina

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

Universidad de Oriente, Núcleo de Anzoátegui

HOJA DE METADATOS PARA TESIS Y TRABAJOS DE ASCENSO

Derechos:

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

Albornoz Bermúdez, Emir J.

Cedeño Parao, Olga R.

Pereira Rivera, María A

AUTOR

AUTOR

AUTOR

Moreno de Marval, María J.

Kiriakos Berdou,
Demetrio

Flautes, Miguel

TUTOR

JURADO

JURADO

Profa. Ovalles, María

**Coordinadora de la Comisión de Trabajos de Grado
POR LA SUBCOMISIÓN DE TESIS**