



UNIVERSIDAD DE ORIENTE
NÚCLEO DE ANZOÁTEGUI
ESCUELA DE CIENCIAS DE LA SALUD
DEPARTAMENTO DE MEDICINA INTERNA

**Dosis letal 50 del veneno de *Crotalus durissus cumanensis* y
Crotalus durissus vegrandis (Serpentes, Viperidae) en los
modelos múridos NMRI y BALB´c**

Presentado por

Br. Fuenmayor, Ysandra C.I: 17.418.820

Br. Salazar, Marifrancly C.I: 16.397.494

Como requisito parcial para optar el título de **MEDICO CIRUJANO**

Barcelona, Marzo 2009



UNIVERSIDAD DE ORIENTE
NÚCLEO DE ANZOÁTEGUI
ESCUELA DE CIENCIAS DE LA SALUD
DEPARTAMENTO DE MEDICINA INTERNA

**Dosis letal 50 del veneno de *Crotalus durissus cumanensis* y
Crotalus durissus vegrandis (Serpentes, Viperidae) en los
modelos múridos NMRI y BALB´c**

Asesor:

Demetrio, Kiriakos

Como requisito parcial para optar el título de **MEDICO CIRUJANO**

Barcelona, Marzo 2009



UNIVERSIDAD DE ORIENTE
NÚCLEO DE ANZOÁTEGUI
ESCUELA DE CIENCIAS DE LA SALUD
DEPARTAMENTO DE MEDICINA INTERNA

**Dosis letal 50 del veneno de *Crotalus durissus cumanensis* y
Crotalus durissus vegrandis (Serpentes, Viperidae) en los
modelos múridos NMRI y BALB´c**

Jurados

Dr. De Sousa, José Leonardo

Dra. Ovalles María

Como requisito parcial para optar el título de **MEDICO CIRUJANO**

Barcelona, Marzo 2009

DEDICATORIA

A Dios Padre Todopoderoso por guiar mis pasos y llenar mi corazón de paciencia, fe y esperanzas durante toda mi carrera.

A mi Virgen Del Valle, Patrona de los Margariteños por protegerme e iluminar mi camino.

A mi abuela Natividad por enseñarme con su carácter, que solo con convicción y fortaleza lograré todo lo que me proponga a lo largo de mi vida, y a mi abuela Yolanda por tanto cariño, orgullo por mis triunfos y confianza en mi futuro.

A mi madre, ejemplo de bondad, honestidad y fe en que cada día podemos ser mejores personas, Gracias por existir y ser mi apoyo más grande, por ayudarme a luchar y vencer todas las adversidades, gracias por confiar en mí y amarme por sobre todas las cosas.

A mi padre por su amor infinito, por intentar protegerme de siempre y por enseñarme a nunca conformarme sino ir tras mis sueños y hacerlos realidad, te quiero Papá.

A toda mi familia, en especial mis tíos por seguir muy de cerca mi carrera, apoyarme y celebrar mis éxitos.

A Miguel Roa por ser mi apoyo incondicional, por ofrecerme en todo momento su cariño, amistad, comprensión, nobleza y sinceridad, por siempre darme aliento para seguir adelante, y por ayudarme en la transcripción de este manuscrito.

A todos mis amigos, en especial a María Eugenia, Karen y Mineira por su cariño y lealtad, las quiero mucho.

A Marifrancly por ser una excelente compañera y amiga con quien compartí esta maravillosa experiencia durante nuestra investigación.

A todos mis profesores por contribuir en mi formación, en especial al Dr. Kiriakos y Dr. Leonardo De Sousa por ser una fuente de inspiración.

A todas aquellas personas que no nombro pero que dejaron huella en mí y sin duda alguna contribuyeron de una u otra forma a todos mis logros.

Ysandra Fuenmayor

DEDICATORIA

A Dios y a la Virgen Del Valle, por ser siempre mi guía espiritual y conducirme por el camino correcto, durante toda mi vida he tenido la certeza de que están a mi lado y espero así siga siendo por el resto de la misma, Amén.

A mis padres, mis más bellos amores, gracias por estar ahí siempre que los necesito y ser mi más grande fuente de fortaleza e inspiración, para ustedes mis agradecimientos serán eternos, los amo.

A mis hermanas: María José, María Laura, María Mercedes y María Esperanza, por siempre ser mi camino a seguir, mis mejores ejemplos de superación y de que nada en esta vida es imposible, por brindarme tanto amor, de verdad mis palabras no son suficientes para demostrarles todo mi cariño y amor.

A los pequeñines, mis sobrinos: Blas Alejandro, Laura Sophia y María Daniela por devolvernos a todo en la casa la belleza de la inocencia infantil, sé que este logro se quedara pequeño al lado de los que ustedes nos brindaran, Dios los bendiga!

Al doctor Demetrio Kiriakos, por ser una excelente persona, por comprenderme y siempre apoyarme, por recorrer conmigo este largo camino por el que ha sabido conducirme de la mejor manera. De verdad muchas gracias, para usted mi más sincero cariño.

A Ysandra, que más que mi compañera de tesis me demostró su sincera amistad, por eso mil gracias Ysa.

A mi amiga Mafer, gracias por tanto, mis palabras se quedarían cortas para expresarle y agradecerle tantos años de amistad y compañerismo, gracias ami, te quiero mucho.

Al resto de mis amigos y compañeros de clase, gracias por compartir conmigo el día a día, por haber hecho más llevadera esta larga jornada compartiendo conmigo mis alegrías y tristezas, los quiero mucho.

A todas aquellas personas que han sido claves en mi formación académica y forman parte de esta meta, sin ustedes esto no hubiese sido posible: Doctor Luis Vásquez, Doctor Raúl González, Doctor José Marcano, Doctor Agustín Vieira, Doctor Leonardo De Sousa, Doctor Luis Tam y muchísimos otros que no menciono por falta de espacio. Gracias por toda su dedicación y por formar excelentes médicos.

Por último y no por eso menos importante, mi cuñado Darwer Ozuna, gracias por haber elegido mi familia para que fuera parte de la suya, y como miembro fiel de la misma acompañarnos bajo todas las circunstancias.

A todos mil Gracias, sinceramente Marifrancny.

AGRADECIMIENTOS

Queremos expresar nuestro agradecimiento a nuestra casa de estudio por proporcionar la infraestructura para el bioterio y el serpentario donde se encuentran los animales que usamos durante esta investigación.

Al Centro de Investigaciones en Ciencias de la Salud (CICS) del Centro de Investigaciones Tecnológicas de Oriente (CITO) por proporcionarnos el laboratorio y los equipos necesarios para el procesamiento del veneno y la realización de los experimentos.

Nuestro más sincero agradecimiento al Dr. Demetrio Kiriakos por aceptar ser nuestro tutor y más que eso, un amigo en esta linda experiencia, ofrecernos su hogar, conocimientos y herramientas necesarias para salir triunfantes en esta ardua lucha, por tenernos paciencia y comprendernos, por ser un ejemplo a seguir en lo profesional y como ser humano.

Al Dr. Leonardo De Sousa por su valiosa colaboración en toda la realización del proyecto, acompañarnos y hacernos amena nuestras largas jornadas de experimentación y por darnos los sabios consejos que solo él sabe dar, lo queremos mucho.

Al Dr. Pedro Parrilla por colaborar en el proceso de liofilización del valioso veneno.

A Tulio Farías por ayudarnos de forma desinteresada para el transporte de los modelos múridos, y a todos los que de una u otra forma ayudaron a la realización de este proyecto, mil gracias.

Ysandra y Marifrancy

INDICE

DEDICATORIA	iv
AGRADECIMIENTOS	viii
INDICE	ix
LISTA DE TABLAS	xi
LISTA DE GRÁFICOS	xiii
RESUMEN.....	xv
INTRODUCCIÓN	16
CAPITULO I: EL PROBLEMA.....	21
1.1 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	21
1.2 OBJETIVOS	24
1.2.1 OBJETIVO GENERAL.....	24
1.2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	24
1.3 JUSTIFICACIÓN	25
CAPITULO II: MARCO TEORICO	26
2.1 Accidente Ofídico	26
2.2 Viperidae	27
2.3 Venenos.....	30
CAPITULO III: MARCO METODOLOGÍCO	31

3.1 TIPO DE INVESTIGACIÓN	31
3.2 VARIABLES	31
3.3 MATERIALES	32
3.4 PROCEDIMIENTO	33
3.4.1 Extracción del veneno	33
3.4.2 Determinación de la dosis letal	33
3.4.3 Procesamiento de los Datos	35
CAPITULO IV: ANALISIS Y PRESENTACION DE RESULTADOS	36
4.1 RESULTADOS.....	36
4.2 DISCUSIÓN	75
CAPITULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	81
5.1 CONCLUSIONES	81
5.2 RECOMENDACIONES	83
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	84
ANEXOS	89
METADATOS PARA TRABAJOS DE GRADO, TESIS Y ASCENSO:.....	1

LISTA DE TABLAS

- Tabla nº 1 Datos para el cálculo de La Dosis Letal (DL_{50}) del veneno de *Crotalus durissus vegrandis* en ratones BALB'c (♀), administrado por VIP para 60 minutos de observación. Pág. 20
- Tabla nº 2 Frecuencia de muerte inducida por el veneno de *Crotalus durissus vegrandis* en el modelo múrido BALB'c (♀) según la dosis administrada por VIP. Pág. 22
- Tabla nº 3 Datos para el cálculo de La Dosis Letal (DL_{50}) del veneno de *Crotalus durissus vegrandis* en ratones NMRI (♀), administrados por VIP para 60 minutos de observación. Pág. 23
- Tabla nº 4 Frecuencia de muerte inducida por el veneno de *Crotalus durissus vegrandis* (en el modelo múrido NMRI (♀) según la dosis administrada por VIP. Pág. 25
- Tabla nº 5 Manifestaciones clínicas de toxicidad observadas en ratones NMRI y BALB'c (♀) en 60 minutos de observación inducidos por la administración VIP del veneno de *Crotalus durissus vegrandis*. Pág. 28
- Tabla nº 6 Datos para el cálculo de La Dosis Letal (DL_{50}) del veneno de *Crotalus durissus cumanensis* en ratones BALB'c (♀), administrado por VIP para 60 minutos de observación. Pág. 29

Tabla nº 7	Frecuencia de muerte inducida por el veneno de <i>Crotalus durissus cumanensis</i> en el modelo mrido BALB'c (♀) según la dosis administrada por VIP.	Pág. 31
Tabla nº 8	Datos para el cálculo de La Dosis Letal (DL ₅₀) del veneno de <i>Crotalus durissus cumanensis</i> en ratones NMRI (♀), administrado por VIP para 60 minutos de observación.	Pág. 32
Tabla nº 9	Frecuencia de muerte inducida por el veneno de <i>Crotalus durissus cumanensis</i> en el modelo mrido NMRI (♀) según la dosis administrada por VIP.	Pág. 34
Tabla nº 10	Manifestaciones clínicas de toxicidad observadas en ratones NMRI y BALB'c (♀) en 60 minutos de observación inducidos por la administración VIP del veneno de <i>Crotalus durissus cumanensis</i> .	Pág. 37
Tabla nº 11	Comparación de la variabilidad del veneno de <i>Crotalus durissus vegrandis</i> y <i>Crotalus durissus cumanensis</i> en los tres modelos múridos y gasto de material biológico.	Pág. 38

LISTA DE GRÁFICOS

- Gráfico n° 1. Dosis Letal (DL₅₀) del veneno de *Crotalus durissus vegrandis* en ratones BALB'c (♀), administrado por VIP para 60 minutos de observación. Pág. 21
- Gráfico n° 2. Dosis Letal (DL₅₀) del veneno de *Crotalus durissus vegrandis* en ratones NMRI (♀) administrado por VIP para 60 minutos de observación. Pág. 24
- Gráfico n° 3. Comparación de las Dosis Letales (DL₅₀) del veneno de *Crotalus durissus vegrandis* en ratones BALB'c y NMRI (♀), administrado por VIP para 60 minutos de observación. Pág. 26
- Gráfico n° 4. Comparación de las Dosis Letales (DL₅₀) del veneno de *Crotalus durissus vegrandis* en ratones BALB'c, NMRI y C57bl/6 (♀), administrado por VIP para 60 minutos de observación. Pág. 27
- Gráfico n° 5. Dosis Letal (DL₅₀) del veneno de *Crotalus durissus cumanensis* en ratones BALB'c (♀), administrado por VIP para 60 minutos de observación. Pág. 30

- Gráfico n° 6. Dosis Letal (DL₅₀) del veneno de *Crotalus durissus cumanensis* en ratones NMRI (♀), administrado por VIP para 60 minutos de observación. Pág. 33
- Gráfico n° 7. Comparación de las Dosis Letales (DL₅₀) del veneno de *Crotalus durissus cumanensis* en ratones BALB´c y NMRI (♀), administrado por VIP para 60 minutos de observación. Pág. 35
- Gráfico n° 8. Comparación de las Dosis Letales (DL₅₀) del veneno de *Crotalus durissus cumanensis* en ratones BALB´c, NMRI y C57bl/6 (♀), administrado por VIP para 60 minutos de observación. Pág. 36

RESUMEN

Dosis letal 50 del veneno de *Crotalus durissus cumanensis* y *Crotalus durissus vegrandis* (Serpentes, Viperidae) en los modelos múridos NMRI y BALB´c

Autores: Fuenmayor R. Ysandra, Salazar G. Marifrancly, Kiriakos Demetrio. “**Dosis letal 50 del veneno de *Crotalus durissus cumanensis* y *Crotalus durissus vegrandis* (Serpentes, Viperidae) en los modelos múridos NMRI y BALB´c**”. Universidad de Oriente, Núcleo de Anzoátegui.

Se estudió la DL_{50} del veneno *Crotalus durissus cumanensis* y *Crotalus durissus vegrandis* en los modelos múridos NMRI y BALB´c vía intraperitoneal para una hora de observación y se comparó las DL_{50} y las manifestaciones clínicas con las ya previamente establecidas en el modelo C57bl/6, obteniendo como resultado que las DL_{50} del veneno de ambos ejemplares es menor en el C57bl/6 en comparación con NMRI y BALB´c, demostrando así su mayor sensibilidad al veneno. Se determinó una resistencia mayor del modelo múrido BALB´c al veneno de *Crotalus durissus cumanensis* mientras que para *Crotalus durissus vegrandis*, el más resistente fue NMRI. Las manifestaciones clínicas y la variabilidad de los experimentos no muestra mayores diferencias, pero, la cepa C57bl/6 fue la que requirió menos gasto de material biológico (veneno y ratones) para ambos venenos. Se concluye que el modelo múrido ideal para estudios de venenos de cascabel es el C57bl/6.

INTRODUCCIÓN

El accidente ofídico representa un importante problema de salud pública en las zonas tropicales y subtropicales del mundo. Las estadísticas de la Organización Mundial de la Salud revelan que cada año mueren en el planeta entre 40 y 50 mil personas, víctimas del envenenamiento provocado por la mordedura de serpientes venenosas, a pesar de los recursos terapéuticos de la medicina actual. Sin embargo, se estima que en todo el mundo cada año más de 2,5 millones de personas son mordidas por serpientes venenosas resultando en alrededor de 120 mil muertes en las regiones tropicales de Asia, África y América Latina, afectando con mayor frecuencia a la población de trabajadores rurales, sobre todo a campesinos jóvenes que se encuentran en plena edad reproductiva (Pirela y col, 2006). Cosa que justifica aun más el rechazo, racional e irracional, que muchos experimentan frente a los ofidios (Lancini, 1986).

Los ofidios o serpientes son animales que pertenecen al filo de los Cordados, es decir, que poseen cuerda dorsal y simetría bilateral. Forman parte del grupo de los Vertebrados por tener un endoesqueleto y un cráneo que envuelve al encéfalo. Están ubicadas en la clase de los Reptiles por tener un corazón con tres cavidades, respiración pulmonar y temperatura corporal variable (poiquilotermos) y se les ha incluido dentro del orden de los Escamosos y suborden Serpentes porque tienen el cuerpo totalmente cubierto de escamas epidérmicas (Pérez Ramos y col, 2000).

Se agrupan en 19 familias de las cuales sólo dos son peligrosas para el humano (Viperidae y Elapidae). No obstante desde el punto de vista médico, es de interés agrupar las serpientes de acuerdo a su peligrosidad tomando en cuenta su tipo

de dentición: aglifas (sin colmillos de inyección); opistoglifas (un par de colmillos acanalados y fijos situados en la parte trasera del maxilar); proteroglifas (un par de colmillos fijos acanalados o huecos, situados en la parte delantera del maxilar) y las solenoglifas (un par de colmillos de inyección de veneno, móviles, huecos, situados en la parte delantera del maxilar). Los Elápidos son proteroglifos y los Vipéridos son solenoglifos (Pérez Ramos y col, 2000).

Las serpientes venenosas de Venezuela pertenecen a varios géneros: *Bothrops*, *Bothriechis*, *Bothriopsis*, *Porthidium*, *Crotalus*, *Lachesis* y *Micrurus*. Los seis primeros corresponden a la familia Viperidae y *Micrurus* a la Elapidae (Campbell y Lamar, 2004).

En la Viperidae se incluye a la subfamilia Crotalinae, la cual, está representada por serpientes de colores opacos que poseen como característica común un órgano termoreceptor o foseta loreal que corresponde a un orificio situado entre las narinas y el ojo de la serpiente popularmente conocidas con el nombre de “cuatro narices” (Rodríguez Acosta, 1998).

Las serpientes están distribuidas por casi todo el globo terrestre, desde la línea ecuatorial hasta los círculos polares, aumentando notablemente en las regiones tropicales. En Venezuela se conocen hasta el presente 142 especies y subespecies de serpientes y no hay región natural del país donde no estén representadas aunque sea por unas pocas, sin embargo, los ofidios son escasos en las zonas muy áridas (xerófilas) de las Penínsulas de Paraguaná, la Guajira, etc. En cambio abundan en las

grandes selvas húmedas y cálidas de Guayana, Zulia y el territorio Amazonas (Lancini, 1986).

La distribución geográfica de las serpientes se encuentra relacionada con su comportamiento bioecológico. Así las de los géneros *Bothrops* y *Lachesis* se ubican en regiones húmedas del piso tropical y subtropical, piedemonte, márgenes de los ríos y quebradas; son especies agresivas y provocan accidentes graves. Las *Crotalus* y *Micrurus* se encuentran preferiblemente en las sabanas, piedemontes y regiones xerófilas. En ese orden de ideas, la subfamilia de serpientes venenosas de mayor importancia y distribución en Venezuela es la Crotalinae entre ellos el género *Crotalus* llamado comúnmente “cascabel” (Campbell y Lamar, 2004). Se distinguen por tener la cabeza pequeña y acorazonada. El cuerpo es robusto y triangular. La cola es muy corta, gruesa y siempre terminada en anillos huecos, córneos y engastados entre sí, que producen un ruido peculiar cuando el animal la agita. Estos anillos están formados por una sustancia similar a las uñas llamada queratina y se forman con el resto de cada muda de la capa epidérmica de la piel del reptil. Estas serpientes tienen hábitos nocturnos o vespertinos y prefieren vivir en las zonas bajas cálidas. Se extienden desde Canadá hasta el norte de Argentina (Lancini y Kornacker, 1989).

En Venezuela se conocen hasta el presente cinco subespecies: *Crotalus durissus cumanensis* descrita por Linneo en 1758, *C. durissus vegrandis* descrita por Klauber en 1941, *C. durissus ruruima* descrita por Hoge en 1965 (revisado por Lancini, 1986), *C. durissus pifanorum* (Sandner-Montilla, 1980) y *C. durissus maricelae* (García Pérez, 1995).

Tres de estas especies (*Crotalus durissus cumanensis*, *C. durissus vegrandis*, *C. durissus pifanorum*) son endémicas de sabanas aluviales ubicadas al norte del río Orinoco; mientras que *C. durissus ruruima* habita en la región del Roraima y *C. durissus maricelae* en el bolsón xerófilo de Lagunillas Estado Mérida (García Pérez, 1995).

Por otra parte, las serpientes desde su nacimiento están preparadas para procurar su alimento. Gracias a su diversidad morfológica y fisiológica han podido adaptarse a una diversidad de comunidades vegetales que presenta la geografía y es por ello que existe una gran variedad de tamaños y colores, con patrones y hábitos definidos en cada caso. Sus colores varían pasando por el gris, café, rosa o amarillento, con destellos café o negro. El tamaño que puede alcanzar está relacionado directamente con las condiciones climáticas y varía desde 23 cm al nacimiento hasta los 2,13 m en las especies más voluminosas, siendo las hembras más grandes que los machos. Normalmente son organismos solitarios pero cuando llega la época de la reproducción o apareamiento pueden agruparse hasta diez cascabeles, llevando a cabo períodos largos de comportamiento precopulatorio. Las crías se desarrollan dentro del oviducto de la madre durante un período de gestación que, dependiendo de las especies, va desde 35 hasta 108 días (Pérez Ramos y col, 2000).

Los venenos, son secreciones viscosas, blanco-amarillentas de gran complejidad química que pueden poseer de 10 a 15 enzimas, 3 a 12 proteínas no enzimáticas y varios polipéptidos así como otras sustancias. Las proteínas y péptidos representan cerca del 90 – 95 % del peso seco del veneno, otros componentes son los cationes metálicos, carbohidratos, nucleósidos, aminos biógenas y tienen bajos niveles de aminoácidos y lípidos libres. El sodio es el catión más importante del

veneno. El zinc y el calcio están presentes en muchas metaloproteinasas encontradas en estos venenos. Los carbohidratos están presentes principalmente en la forma de glucoproteínas (Markland, 1998).

El veneno de las diferentes especies y aún de la misma especie varía según la edad de la especie de la serpiente, la localidad geográfica, la época del año y otros factores (Toro y col, 1983).

Por otra parte, en lo que respecta a la neurotoxicidad del veneno de serpientes, mayormente descrita en crotálicos, sabemos que en condiciones naturales las neurotoxinas no son capaces de penetrar la barrera hematoencefálica, sin embargo, bajo profundas alteraciones, ellas pueden alcanzar el sistema nervioso central y causar cuadros patológicos hasta ahora mal descritos (Barraviera, 1994).

CAPITULO I: EL PROBLEMA

1.1 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Las neurotoxinas son los componentes clásicos del veneno crotálico, que afectan principalmente la unión neuromuscular y producen parálisis flácida. Sin embargo, no todas las neurotoxinas tienen el mismo sitio ni modo de acción o producen efectos clínicos similares. De acuerdo con el sitio de acción las neurotoxinas se clasifican en presinápticas y postsinápticas. Con respecto a las presinápticas, afectan el axón terminal por un mecanismo no bien determinado, produciendo parálisis flácida de los músculos afectados. De forma experimental se ha comprobado que este proceso dura una hora aproximadamente, pero clínicamente, debido al tiempo adicional tomado para que la neurotoxina sea absorbida y alcance la circulación, salga de nuevo al compartimiento extravascular y localice la unión neuromotora, puede durar de 30 minutos a varias horas. La aparición de parálisis flácida presináptica es improbable en menos de una o dos horas posteriores a la mordedura de la serpiente. Debido a que las neurotoxinas presinápticas causan daño al axón terminal, éstas son poco sensibles a la terapia con antiveneno. En cuanto a las neurotoxinas postinápticas, ellas pueden actuar tan pronto como alcanzan la placa neuromotora y pueden causar parálisis más rápido que las presinápticas, pero como se hallan expuestas en la superficie celular, en el compartimiento extracelular, son accesibles a los antivenenos y de esta forma puede revertirse su efecto (Rodríguez Acosta, 1998).

En lo que respecta a las actividades hemorrágicas y proteolíticas de las serpientes suramericanas ellas existen casi exclusivamente en venenos botrópicos y

luchésicos, sin embargo en los últimos años se han comenzado a describir estas actividades en algunas especies de crótalos venezolanos (Rodríguez Acosta y col, 1995).

En atención a lo expuesto, los Crotalidae poseen una fuerte actividad de enzimas proteolíticas que han sido identificadas como metaloproteasas, que son de dos tipos: las de alta especificidad por su sustrato que inducen hemorragias y de amplia actividad que no inducen hemorragia (Barraviera, 1994).

Clínicamente, los efectos causados por envenenamiento por serpientes se clasifican en sistémicos y locales (Gallazi y col, 2002). Los envenenamientos por mordeduras de serpientes de la familia Viperidae, subfamilia Crotalinae, son caracterizados por prominentes alteraciones a nivel local; incluyendo hemorragia, edema y necrosis, efectos que pueden resultar en secuelas permanentes; desarrollándose rápidamente después del envenenamiento (Gutiérrez y col, 2000).

El cuadro clínico manifestado resulta de la combinación de los diferentes efectos producidos por los componentes proteicos presentes en el veneno. Los efectos tóxicos de las mordeduras de las serpientes de cascabel son debidos a las proteínas presentes en el veneno. Algunas de ellas causan daño considerable a nivel local como edema, formación de ampollas, hemorragias y necrosis tisular (Bogarín y col, 1999)

Dentro de este marco es importante destacar que en el Estado Anzoátegui según datos proporcionados por SALUDANZ se reportaron 509 casos de

envenenamiento ofídico desde el año 2005 hasta la semana epidemiológica número 22 del año 2007. En el Estado Anzoátegui la causa más común de estos accidentes son las cascabeles (Kiriakos, 1993).

Crotalus durissus cumanensis tiene por localidad típica en nuestro país a Cumaná, estado Sucre y se distribuye en gran parte del país representando a la serpiente típica de cascabel en Venezuela. Por otro lado, *Crotalus durissus vegrandis* tiene por localidad típica las sabanas de Uraoa, Distrito Sotillo (Estado Monagas); es endémica exclusivamente del sur de los Estados Monagas y Anzoátegui y es una de las serpientes venenosas más interesantes de nuestro país (Lancini, 1986).

Es importante destacar que diversas investigaciones han sido efectuadas con relación al cálculo de la dosis letal 50 (DL₅₀) del veneno de estas especies inyectados por vía intraperitoneal, en la Universidad de Oriente, Núcleo Anzoátegui, (Baldí y Chalhoub, 2007; Valerio, 2007; Acosta, Cayamo y Graziani, 2008) utilizando el modelo múrdo C57bl/6. Estos ratones son homocigotos por lo que la variabilidad de los experimentos debería ser menor, sin embargo, son relativamente costosos y difíciles de adquirir. Por este motivo, hemos planteado la necesidad de probar otras cepas de ratón que puedan resultar más fáciles de mantener y adquirir, escogiendo las cepas NMRI y BALB´c con el fin de responder las siguientes interrogantes. ¿Cuál de estas cepas es más sensible al efecto tóxico del veneno de cascabeles? ¿Cuál será la variabilidad experimental con estas cepas de ratón? ¿Qué cepa será la más apropiada para continuar con los estudios de venenos de serpientes en nuestro laboratorio?

1.2 OBJETIVOS

1.2.1 OBJETIVO GENERAL

Estudiar la DL_{50} del veneno *Crotalus durissus cumanensis* y *Crotalus durissus vegrandis* en los modelos múridos NMRI y BALB'c y comparar la DL_{50} y las manifestaciones clínicas con las ya previamente establecidas en el modelo mrido C57bl/6.

1.2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Calcular la DL_{50} del veneno *Crotalus durissus cumanensis* y *Crotalus durissus vegrandis* en los modelos múridos NMRI y BALB'c por vía intraperitoneal para una hora de observación.
2. Comparar las DL_{50} y las manifestaciones clínicas del veneno *Crotalus durissus cumanensis* y *Crotalus durissus vegrandis* en estos modelos múridos con la previamente establecida en C57bl/6.
3. Comparar la variabilidad en los resultados de los experimentos de DL_{50} establecidas en estos tres modelos múridos.
4. Determinar cuál de los modelos múridos (NMRI, BALB'c, C57BL6) es el más apropiado para seguir realizando estos estudios.

1.3 JUSTIFICACIÓN

Este trabajo tiene como finalidad comparar la DL_{50} de dos especies de cascabeles (*Crotalus durissus cumanensis* y *Crotalus durissus vegrandis*) en los modelos múridos: BALB´c y NMRI con la cepa comúnmente usada en nuestro laboratorio C57bl6, ya que ofrecen mayor facilidad en cuanto a su reproducción, crianza y manutención, y así, poder determinar cuál modelo múrido es el más apropiado para seguir realizando este tipo de investigaciones, que son de mucha importancia tomando en cuenta que el envenenamiento ofídico es un problema de salud pública en la mayoría de los países tropicales, entre ellos Venezuela, debido a las condiciones bioclimáticas que presenta.

CAPITULO II: MARCO TEORICO

2.1 Accidente Ofídico

El accidente ofídico representa un importante problema de salud pública en las zonas tropicales y subtropicales del mundo. Las estadísticas de la Organización Mundial de la Salud revelan que cada año mueren en el planeta entre 40 y 50 mil personas, víctimas del envenenamiento provocado por la mordedura de serpientes venenosas, a pesar de los recursos terapéuticos de la medicina actual. Sin embargo, se estima que en todo el mundo cada año más de 2,5 millones de personas son mordidas por serpientes venenosas resultando en alrededor de 120 mil muertes en las regiones tropicales de Asia, África y América Latina, afectando con mayor frecuencia a la población de trabajadores rurales, sobre todo a campesinos jóvenes que se encuentran en plena edad reproductiva (Pirela y col, 2006). Cosa que justifica aun más el rechazo, racional e irracional, que muchos experimentan frente a los ofidios (Lancini, 1986).

Los ofidios o serpientes son animales que pertenecen al filo de los Cordados, es decir, que poseen cuerda dorsal y simetría bilateral. Forman parte del grupo de los Vertebrados por tener un endoesqueleto y un cráneo que envuelve al encéfalo. Están ubicadas en la clase de los Reptiles por tener un corazón con tres cavidades, respiración pulmonar y temperatura corporal variable (poiquilotermos) y se les ha incluido dentro del orden de los Escamosos y suborden Serpentes porque tienen el cuerpo totalmente cubierto de escamas epidérmicas (Pérez Ramos y col, 2000).

Se agrupan en 19 familias de las cuales sólo dos son peligrosas para el humano (Viperidae y Elapidae). No obstante desde el punto de vista médico, es de interés agrupar las serpientes de acuerdo a su peligrosidad tomando en cuenta su tipo de dentición: aglifas (sin colmillos de inyección); opistoglifas (un par de colmillos acanalados y fijos situados en la parte trasera del maxilar); proteroglifas (un par de colmillos fijos acanalados o huecos, situados en la parte delantera del maxilar) y las solenoglifas (un par de colmillos de inyección de veneno, móviles, huecos, situados en la parte delantera del maxilar). Los Elápidos son proteroglifos y los Vipéridos son solenoglifos (Pérez Ramos y col, 2000).

Las serpientes venenosas de Venezuela pertenecen a varios géneros: *Bothrops*, *Bothriechis*, *Bothriopsis*, *Porthidium*, *Crotalus*, *Lachesis* y *Micrurus*. Los seis primeros corresponden a la familia Viperidae y *Micrurus* a la Elapidae (Campbell y Lamar, 2004).

2.2 Viperidae

En la Viperidae se incluye a la subfamilia Crotalinae, la cual, está representada por serpientes de colores opacos que poseen como característica común un órgano termoreceptor o foseta loreal que corresponde a un orificio situado entre las narinas y el ojo de la serpiente popularmente conocidas con el nombre de “cuatro narices” (Rodríguez Acosta, 1998).

Las serpientes están distribuidas por casi todo el globo terrestre, desde la línea ecuatorial hasta los círculos polares, aumentando notablemente en las regiones tropicales. En Venezuela se conocen hasta el presente 142 especies y subespecies de serpientes y no hay región natural del país donde no estén representadas aunque sea por unas pocas, sin embargo, los ofidios son escasos en las zonas muy áridas (xerófilas) de las Penínsulas de Paraguaná, la Guajira, etc. En cambio abundan en las grandes selvas húmedas y cálidas de Guayana, Zulia y el territorio Amazonas (Lancini, 1986).

La distribución geográfica de las serpientes se encuentra relacionada con su comportamiento bioecológico. Así las de los géneros *Bothrops* y *Lachesis* se ubican en regiones húmedas del piso tropical y subtropical, piedemonte, márgenes de los ríos y quebradas; son especies agresivas y provocan accidentes graves. Las *Crotalus* y *Micrurus* se encuentran preferiblemente en las sabanas, piedemontes y regiones xerófilas. En ese orden de ideas, la subfamilia de serpientes venenosas de mayor importancia y distribución en Venezuela es la Crotalinae entre ellos el género *Crotalus* llamado comúnmente “cascabel” (Campbell y Lamar, 2004). Se distinguen por tener la cabeza pequeña y acorazonada. El cuerpo es robusto y triangular. La cola es muy corta, gruesa y siempre terminada en anillos huecos, córneos y engastados entre sí, que producen un ruido peculiar cuando el animal la agita. Estos anillos están formados por una sustancia similar a las uñas llamada queratina y se forman con el resto de cada muda de la capa epidérmica de la piel del reptil. Estas serpientes tienen hábitos nocturnos o vespertinos y prefieren vivir en las zonas bajas cálidas. Se extienden desde Canadá hasta el norte de Argentina (Lancini y Kornacker, 1989).

En Venezuela se conocen hasta el presente cinco subespecies: *Crotalus durissus cumanensis* descrita por Linneo en 1758, *C. durissus vegrandis* descrita por Klauber en 1941, *C. durissus ruruima* descrita por Hoge en 1965 (revisado por Lancini, 1986), *C. durissus pifanorum* (Sandner-Montilla, 1980) y *C. durissus maricelae* (García Pérez, 1995).

Tres de estas especies (*Crotalus durissus cumanensis*, *C. durissus vegrandis*, *C. durissus pifanorum*) son endémicas de sabanas aluviales ubicadas al norte del río Orinoco; mientras que *C. durissus ruruima* habita en la región del Roraima y *C. durissus maricelae* en el bolsón xerófilo de Lagunillas Estado Mérida (García Pérez, 1995).

Por otra parte, las serpientes desde su nacimiento están preparadas para procurar su alimento. Gracias a su diversidad morfológica y fisiológica han podido adaptarse a una diversidad de comunidades vegetales que presenta la geografía y es por ello que existe una gran variedad de tamaños y colores, con patrones y hábitos definidos en cada caso. Sus colores varían pasando por el gris, café, rosa o amarillento, con destellos café o negro. El tamaño que puede alcanzar está relacionado directamente con las condiciones climáticas y varía desde 23 cm al nacimiento hasta los 2,13 m en las especies más voluminosas, siendo las hembras más grandes que los machos. Normalmente son organismos solitarios pero cuando llega la época de la reproducción o apareamiento pueden agruparse hasta diez cascabeles, llevando a cabo períodos largos de comportamiento precopulatorio. Las crías se desarrollan dentro del oviducto de la madre durante un período de gestación que, dependiendo de las especies, va desde 35 hasta 108 días (Pérez Ramos y col, 2000).

2.3 Venenos

Los venenos, son secreciones viscosas, blanco-amarillentas de gran complejidad química que pueden poseer de 10 a 15 enzimas, 3 a 12 proteínas no enzimáticas y varios polipéptidos así como otras sustancias. Las proteínas y péptidos representan cerca del 90 – 95 % del peso seco del veneno, otros componentes son los cationes metálicos, carbohidratos, nucleósidos, aminas biógenas y tienen bajos niveles de aminoácidos y lípidos libres. El sodio es el catión más importante del veneno. El zinc y el calcio están presentes en muchas metaloproteinasas encontradas en estos venenos. Los carbohidratos están presentes principalmente en la forma de glucoproteínas (Markland, 1998).

El veneno de las diferentes especies y aún de la misma especie varía según la edad de la especie de la serpiente, la localidad geográfica, la época del año y otros factores (Toro y col, 1983).

Por otra parte, en lo que respecta a la neurotoxicidad del veneno de serpientes, mayormente descrita en crotálidos, sabemos que en condiciones naturales las neurotoxinas no son capaces de penetrar la barrera hematoencefálica, sin embargo, bajo profundas alteraciones, ellas pueden alcanzar el sistema nervioso central y causar cuadros patológicos hasta ahora mal descritos (Barraviera, 1994).

CAPITULO III: MARCO METODOLOGÍCO

3.1 TIPO DE INVESTIGACIÓN

La investigación de tipo investigativa-comparativa. En el presente trabajo se determinarán las DL_{50} y manifestaciones clínicas del veneno de las especies *Crotalus durissus cumanensis* y *Crotalus durissus vegrandis* en los modelos múridos NMRI y BALB´c por vía intraperitoneal para una hora de observación y se compararán con las previamente hechas en el modelo múrido C57bl/6.

3.2 VARIABLES

Independientes: Ejemplares múridos NMRI y BALB´c.

Veneno de *Crotalus durissus vegrandis*

Veneno de *Crotalus durissus cumanensis*

Dependientes: Susceptibilidad de cada cepa de los ejemplares múridos a estudiar al veneno de *Crotalus durissus cumanensis* y *Crotalus durissus vegrandis*

3.3 MATERIALES

Veneno de *Crotalus durissus cumanensis*

Veneno de *Crotalus durissus vegrandis*

Ratones cepa BALB´c

Ratones cepa NMRI

Cristalería de laboratorio (Microjeringas de 50 microlitros de capacidad, vasos de precipitado, tubos de ensayo, micropipetas graduadas de volumen variado, jeringas de 10 y 20 cc, piceta plástica, microgoteros, tubos Eppendorf®)

Liofilizador Labconco®

Balanza analítica Sartorius®, modelo Handy

Balanza digital Denver Instrument®, modelo XS-310.

Cloroformo

Solución fisiológica

Papel Parafilm®

Refrigerador marca Whirpool de -20 °C

Gancho para serpiente

3.4 PROCEDIMIENTO

3.4.1 Extracción del veneno

El ordeño de cada uno de los ejemplares de cascabel, se realizó en el serpentario de la Universidad de Oriente, Núcleo de Anzoátegui. Los crotálicos se extrajeron de su terrario con un gancho en forma de "S" en la punta. Luego se procedió a tomar el animal con el dedo pulgar en un lado, el índice sobre la cabeza y el dedo medio sujetando el otro lado de la cabeza en forma tal que se imposibilitó que la culebra gire y muerda. Se tomó un vaso de precipitado de 50 ml de capacidad, previamente cubierto con un plástico (Parafilm®) adherido al vaso. Se le acercó la cabeza de la serpiente para que esta mordiera el plástico naturalmente mientras que se le realizaron suaves masajes sobre las glándulas productoras de veneno, las cuales se encuentran en la parte postero-lateral de la cabeza, dejándose así en el recipiente una pequeña cantidad de veneno. Posteriormente el tratamiento inicial consistió en desecarlo al frío (Liofilizador Labconco®) y antes de su utilización fue pesado en una balanza analítica (Sartorius®), reconstituido en solución salina (0,9%) a una concentración de 10 mg/ml y almacenado en tubos Eppendorf® de 1,5 ml de capacidad.

3.4.2 Determinación de la dosis letal

La dosis letal 50 medida como la potencia de una sustancia tóxica, se define como aquella cantidad de veneno necesaria para causar la muerte a la mitad de los ratones inyectados con el veneno de las cascabeles, la cual se determinó por el

método secuencial de aumentar y disminuir la dosis de Dixon y Mood (1948) modificado por Sevcik, (1987). El veneno se inyectó con microjeringa de 50 microlitros (Hamilton®) utilizando la vía intraperitoneal (VIP) en ratones BALB´c y NMRI, previamente pesados en una balanza digital (Denver Instrument®, modelo XS-310.D). Para iniciar el experimento, al primer ratón se le administró una dosis inicial $X_1 = \log^{-1}X$ escogida arbitrariamente y se observó la respuesta en un tiempo definido de observación (una hora).

Si el primer ratón responde con la muerte, el segundo recibe una dosis calculada como $X_2 = \text{anti-log}(X - d)$ donde d fue un factor arbitrario constante ($d = 0,05$). Si por el contrario el ratón sobrevivió, al segundo murido se le administró una dosis calculada como $X'_2 = \text{anti-log}(X + d)$. Se continuó con el experimento hasta encontrar el primer fenómeno vida – muerte o muerte – vida que fue el punto de inflexión a partir del cual se comenzó la corrida válida para el experimento. La dosis de cada siguiente animal es el anti-*log* de $X_m - d$ si el animal “m” murió con la dosis anti-*log* X_m o bien, anti-*log* $X_m + d$, si el animal “m” sobrevivió a la dosis anti-*log* X_m . El muestreo se detuvo al obtener una secuencia similar a +0+0+0+ * ó 0+0+0+0 *, donde positivo (+) indica muerte, cero (0) indica sobrevivencia y asterisco (*), la dosis que se administró al siguiente ratón definido como punto final. La corrida válida se consideró completa al obtener tres ciclos de muerte – no muerte.

Para el cálculo de la DL_{50} , según la mediana y sus límites de confianza, se tomó en cuenta las dosis de la corrida válida más la del punto final.

Las manifestaciones clínicas, consecuencia del efecto de la toxicidad aguda experimental inducida por la inyección intraperitoneal de veneno de ejemplares *Crotalus durissus cumanensis* y *Crotalus durissus vegrandis* en los modelos múridos NMRI y BALB'c se observaron durante una hora de experimentación y se registraron cronológicamente en un formato preexistente (anexo 1). También se usó un ratón control al cual se le administró 50 microlitros de solución fisiológica.

3.4.3 Procesamiento de los Datos

Se utilizó el programa Microsoft® Excel 2007 para automatizar los cálculos y elaborar la gráfica de la DL₅₀.

Todos los datos experimentales se procesaron por métodos estadísticos no paramétricos o de libre distribución.

Se calcularon las medianas según Hodges y Lehmann y sus límites de confianza al 95% usando para el procesamiento de los datos el método estadístico no paramétrico del programa V-8.2 (Sevcik, 1987) Laboratorio de Neurofarmacología Celular, Centro de Biofísica y Bioquímica, IVIC, Miranda.

Las diferencias entre los cálculos de la DL₅₀ de veneno de *Crotalus durissus cumanensis* y *Crotalus durissus vegrandis* en los modelos múridos BALB'c y NMRI fueron probados por la técnica de análisis de varianza de Kruskal-Wallis. Se tomó un nivel de significancia $p < 0,05$.

Se calculó el índice de variabilidad (I.V) según la fórmula: $\frac{LS-LI}{m} \times 100$; donde LS y LI representaron el límite superior e inferior respectivamente de los valores donde se encontró la DL₅₀, y m representó la DL₅₀.

CAPITULO IV: ANALISIS Y PRESENTACION DE RESULTADOS

4.1 RESULTADOS

En la tabla 1 se presenta los datos necesarios para el cálculo de la DL_{50} del veneno de *Crotalus durissus vegrandis*, en ratones hembra, BALB'c, observados durante 60 minutos.

El total de ratones BALB'c, para la determinación de la DL_{50} fue de $n = 12$, con un peso promedio de 21,46 g. El punto de inflexión (fenómeno muerte no-muerte o no-muerte muerte) se ubicó en R_2 . A partir de este punto se consideró la corrida secuencial válida para la determinación de la DL_{50} y de los efectos de toxicidad aguda experimental del veneno de esta especie (Tabla 1).

La corrida válida, para calcular la DL_{50} , fue desde R_2 hasta $R_{12} + R_{13}$ (punto final) $[n = 12]$; y, para evaluar los signos de toxicidad aguda experimental desde R_2 hasta R_{12} $[n = 11]$. La cantidad de veneno utilizado fue de 4000,08 μg (4,00 mg) (Tabla 1).

La DL_{50} para 60 minutos de observación, del veneno de *Crotalus durissus vegrandis*, administrado por vía intraperitoneal en ratones hembra BALB'c, se presenta en la gráfica 1, donde se puede observar una mediana de 15,85 (14,99-15,96) mg/kg de ratón y un índice de variabilidad de 6,12%.

La frecuencia de muerte causada por la administración del veneno en ratones se presenta en la tabla 2. Para este veneno la mayor frecuencia de muerte 66,7% (n = 4) ocurrió con la dosis B ($15,85 \mu\text{g}\times\text{g}^{-1}$). Con la dosis C ($17,78 \mu\text{g}\times\text{g}^{-1}$) la frecuencia fue 33,3 % (n = 2). Cuando se administró la dosis A ($14,13 \mu\text{g}\times\text{g}^{-1}$) todos los ratones sobrevivieron.

En la tabla 3 se presentan los datos necesarios para el cálculo de la DL_{50} del veneno de *Crotalus durissus vegrandis*, en ratones hembra, NMRI, observados durante 60 minutos.

El total de ratones NMRI, para la determinación de la DL_{50} fue de n = 18 con un peso promedio de 30,78 g. El punto de inflexión (fenómeno muerte no-muerte o no-muerte muerte) se ubicó en R_4 . A partir de este punto se consideró la corrida secuencial válida para la determinación de la DL_{50} y de los efectos de toxicidad aguda experimental del veneno de esta especie (Tabla 3).

La corrida válida, para calcular la DL_{50} , fue desde R_4 hasta $R_{18} + R_{19}$ (punto final) [n = 16]; y, para evaluar los signos de toxicidad aguda experimental desde R_4 hasta R_{18} [n = 15]. La cantidad de veneno utilizado fue de 9799,59 μg (9,8 mg) (Tabla 3).

La DL_{50} para 60 minutos de observación, del veneno de *Crotalus durissus vegrandis*, administrado por vía intraperitoneal en ratones hembra NMRI, se presenta

en la gráfica 2, donde se puede observar una mediana de 17,90 (17,04 -18,87) mg/kg de ratón y un índice de variabilidad de 10,22%.

La frecuencia de muerte causada por la administración del veneno en ratones se presenta en la tabla 4. Para este veneno la mayor frecuencia de muerte 50% (n = 4) ocurrió con la dosis D (19,95 $\mu\text{g}\times\text{g}^{-1}$). Con las dosis B (15,85 $\mu\text{g}\times\text{g}^{-1}$) fue de 25% (n = 2), con las dosis C (17,78 $\mu\text{g}\times\text{g}^{-1}$) y E (22,39 $\mu\text{g}\times\text{g}^{-1}$), las frecuencias fueron 12,5% (n = 1) para cada uno. Cuando se administró la dosis A (14,13 $\mu\text{g}\times\text{g}^{-1}$) todos los ratones sobrevivieron.

Al comparar las DL_{50} obtenidas del veneno de *Crotalus durissus vegrandis*, sobre las cepas de los modelos múridos BALB'c y NMRI hembras, administrado por VIP para 60 minutos de observación, las flechas indican el punto de inflexión; empleando la técnica de análisis de varianza de Kruskal – Wallis, se encontró una diferencia altamente significativa sobre la sensibilidad al veneno de ambos modelos múridos (KW = 6,75; p = 0,00250). De forma gráfica podemos observar esta comparación de manera yuxtapuesta en la gráfica 3.

Se compararon algunos resultados de las cepas NMRI y BALB'c, obtenidos en este trabajo, con los logrados por Valerio (2007) en ratones hembra, homocigotos, C57bl/6.

La gráfica 4 compara las DL_{50} del veneno de *Crotalus durissus vegrandis* logradas en los tres modelos múridos. Los resultados indican que la DL_{50} , del veneno

de esta especie, fue significativamente menor en ratones C57bl/6 (DL_{50} VIP, 60 minutos = 12,58 (11,90 -13,35) mg/kg de ratón); que el obtenido en ratones BALB'c (DL_{50} VIP, 60 minutos = 15,85 (14,99-15,96) mg/kg de ratón); y este, menor que el calculado en los NMRI (DL_{50} VIP, 60 minutos = 17,90 (17,04 -18,87) mg/kg de ratón). Con relación al índice de variabilidad (I.V) este fue menor en ratones BALB'c (6,12%) que en NMRI (10,22%) o C57bl/6 (11,52%).

Los efectos tóxicos provocados por la administración del veneno de *Crotalus durissus vegrandis*, en ambos modelos múridos (BALB'c y NMRI hembra) observados en 1 hora de experimentación se presentan en la tabla 5, donde manifestaciones clínicas como hipoactividad, taquipnea, cianosis y defecación pastosa son los que más se observaron con frecuencias que varían entre 66,7 y 100%, con un promedio de tiempo estimado entre 9 y 35 minutos. Otras manifestaciones clínicas observadas con menor frecuencia, en ambos modelos múridos fueron, apnea, espasmos y postración.

En la tabla 6 se presenta los datos necesarios para el cálculo de la DL_{50} del veneno de *Crotalus durissus cumanensis*, en ratones hembra, BALB'c, observados durante 60 minutos.

El total de ratones BALB'c, para la determinación de la DL_{50} fue de $n = 17$, con un peso promedio de 18,60 g. El punto de inflexión (fenómeno muerte no-muerte o no-muerte muerte) se ubicó en R_2 . A partir de este punto se consideró la corrida secuencial válida para la determinación de la DL_{50} y de los efectos de toxicidad aguda experimental del veneno de esta especie (Tabla 6).

La corrida válida, para calcular la DL_{50} , fue desde R_2 hasta $R_{17} + R_{18}$ (punto final) [n = 17]; y, para evaluar los signos de toxicidad aguda experimental desde R_2 hasta R_{17} [n = 16]. La cantidad de veneno utilizado fue de 8076,20 μg (8,1 mg) (Tabla 6).

La DL_{50} para 60 minutos de observación, del veneno de *Crotalus durissus cumanensis*, administrado por vía intraperitoneal en ratones hembra BALB'c, se presenta en la gráfica 5, donde se puede observar una mediana de 25,29 (24,07-26,65) mg/kg de ratón y un índice de variabilidad de 10,20%.

La frecuencia de muerte causada por la administración del veneno en ratones se presenta en la tabla 7. Para este veneno la mayor frecuencia de muerte 37,5% (n = 3) ocurrió con la dosis D (28,18 $\mu\text{g}\times\text{g}^{-1}$). Con la dosis E (31,62 $\mu\text{g}\times\text{g}^{-1}$) la frecuencia fue de 25% (n=2) y con las dosis A (19,95 $\mu\text{g}\times\text{g}^{-1}$), B (22,39 $\mu\text{g}\times\text{g}^{-1}$) y C (25,15 $\mu\text{g}\times\text{g}^{-1}$) fue de 12,5% (n = 1) para cada uno.

En la tabla 8 se presenta los datos necesarios para el cálculo de la DL_{50} del veneno de *Crotalus durissus cumanensis*, en ratones hembra, NMRI, observados durante 60 minutos.

El total de ratones NMRI, para la determinación de la DL_{50} fue de n = 12, con un peso promedio de 34,06 g. El punto de inflexión (fenómeno muerte no-muerte o no-muerte muerte) se ubicó en R_2 . A partir de este punto se consideró la corrida

secuencial válida para la determinación de la DL_{50} y de los efectos de toxicidad aguda experimental del veneno de esta especie (Tabla 8).

La corrida válida, para calcular la DL_{50} , fue desde R_2 hasta $R_{12} + R_{13}$ (punto final) [n = 12]; y, para evaluar los signos de toxicidad aguda experimental desde R_2 hasta R_{12} [n = 11]. La cantidad de veneno utilizado fue de 4584,37 μg (4,6 mg) (Tabla 8).

La DL_{50} para 60 minutos de observación, del veneno de *Crotalus durissus cumanensis*, administrado por vía intraperitoneal en ratones hembra NMRI, se presenta en la gráfica 6, donde se puede observar una mediana de 11,22 (10,61-11,90) mg/kg de ratón y un índice de variabilidad de 11,5%.

La frecuencia de muerte causada por la administración del veneno en ratones se presenta en la tabla 9. Para este veneno la mayor frecuencia de muerte 50% (n = 3) ocurrió con la dosis B y C ($11,22 \mu\text{g}\times\text{g}^{-1}$) y ($12,58 \mu\text{g}\times\text{g}^{-1}$) respectivamente. Cuando se administró la dosis A ($10 \mu\text{g}\times\text{g}^{-1}$) todos los ratones sobrevivieron.

Al comparar las DL_{50} obtenidas del veneno de *Crotalus durissus cumanensis*, sobre las cepas de los modelos múridos BALB/c y NMRI hembras, administrado por VIP para 60 minutos de observación, las flechas indican el punto de inflexión; empleando la técnica de análisis de varianza de Kruskal – Wallis, se evidencian diferencias altamente significativas sobre la sensibilidad al veneno de ambos ratones

(KW = 20,4; p = 0,000001). De forma gráfica podemos observar esta comparación de manera yuxtapuesta en la gráfica 7.

Se compararon algunos resultados de las cepas NMRI y BALB´c, obtenidos en este trabajo, con los logrados por Baldi y Chalhoud (2007) en ratones hembra, homocigotos, C57bl/6.

La gráfica 8 compara las DL₅₀ del veneno de *Crotalus durissus cumanensis* logradas en los tres modelos múridos. Los resultados indican que la DL₅₀, del veneno de esta especie, fue significativamente menor en ratones C57bl/6 DL₅₀ VIP, 60 minutos = 10,6 (10,0-11,2) mg/kg de ratón]; y en ratones NMRI [DL₅₀ VIP, 60 minutos = 11,22 (10,61-11,90) mg/kg de ratón]; que el conseguido en los BALB´c [DL₅₀ VIP, 60 minutos = 25,29 (24,07-26,65) mg/kg de ratón]. Es decir, para el veneno de *Crotalus durissus cumanensis* los ratones BALB´c son los más resistentes, mientras que C57bl/6 y NMRI no muestran diferencias de sensibilidad. Con relación al índice de variabilidad este fue menor en ratones BALB´c (10,20%) que en C57bl/6 (11,32%) ó NMRI (11,5%).

Los efectos tóxicos provocados por la administración del veneno de *Crotalus durissus cumanensis*, en ambos modelos múridos (BALB´c y NMRI hembras) observados en 1 hora de experimentación se presentan en la tabla 10, donde manifestaciones clínicas como hipoactividad, taquipnea, cianosis y defecación pastosa son los que más se observaron con frecuencias que varían entre 62,5 y 100%, con un promedio de tiempo estimado entre 5 y 12 minutos; resaltando la taquipnea que se presentó en todos los ratones de ambos modelos múridos estudiados. Otras

manifestaciones clínicas que se observaron con menor frecuencia en ambos modelos múridos fueron mioclonias, apnea, postración y ataxia del tren posterior.

El veneno de *Crotalus durissus vegrandis* resultó más variable el modelo múrido C57bl/6 y también presentó un gasto menor de veneno, no así presentó el menor número de ratones usados. Con respecto al veneno de *Crotalus durissus cumanensis* resultó más variable el modelo múrido NMRI, pero este no representa menos gasto de material biológico. (Tabla 11).

Como puede verse en la tabla 11 los ratones BALB'c muestran una variabilidad menor que NMRI en los experimentos, pero en lo que respecta al gasto de material biológico resultados son variables; se usó aproximadamente el mismo número de ratones NMRI y BALB'c, pero los ratones NMRI consumieron más veneno de *Crotalus durissus vegrandis* que los BALB'c, mientras que con el veneno de *Crotalus durissus cumanensis* fue exactamente lo contrario.

Al comparar con lo previamente establecido en ratones C57bl/6 en nuestro laboratorio vemos que en promedio estos dan una variabilidad similar pero se requiere un uso relativamente menor de ratones y mucho menos veneno.

Tabla 1. Datos para el cálculo de La Dosis Letal (DL_{50}) del veneno de *Crotalus durissus vegrandis* en ratones BALB'c (\varnothing), administrado por VIP para 60 minutos de observación.

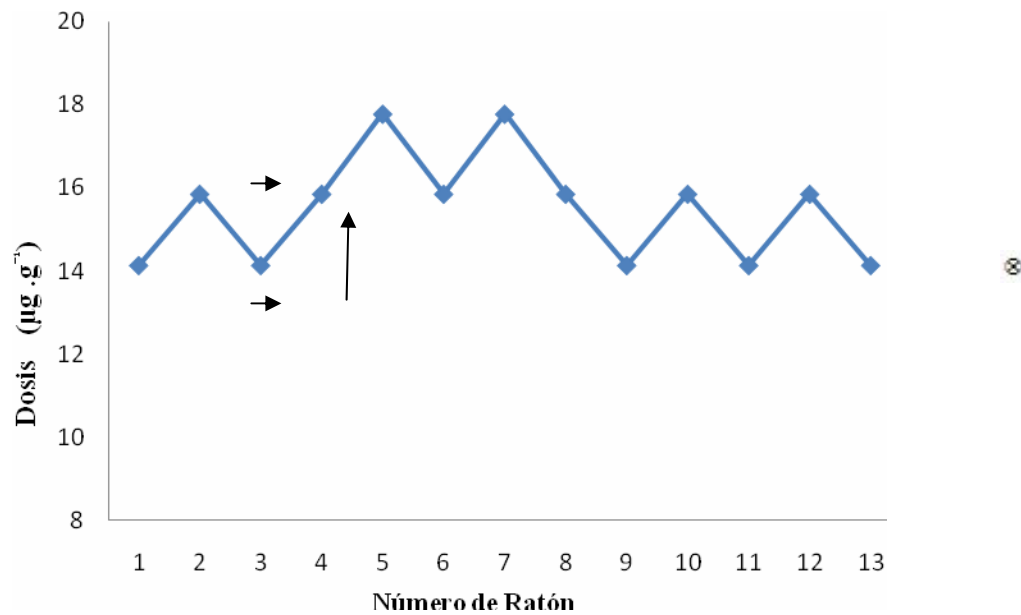
Ratón	Peso	Dosis	Dosis	Dosis Total	Muerte
(n)	(g)	(Anti-log)	($\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$)	(μg)	(min)
Corrida No Válida					
1	20,6	A: 1,15	14,13	291,078	0
SUB-TOTAL				291,078	
Corrida Válida					
2	25,05	B: 1,20	15,85	397,04	† :34
3	24,75	A: 1,15	14,13	349,51	0
4	23,80	B: 1,20	15,85	377,23	0
5	15,78	C: 1,25	17,78	280,5	† :54
6	19,00	B: 1,20	15,85	301,15	0
7	20,52	C: 1,25	17,78	364,84	† :42
8	19,70	B: 1,20	15,85	312,24	† :30
9	23,20	A: 1,15	14,13	327,81	0
10	26,00	B: 1,20	15,85	412,10	† :57
11	20,20	A: 1,15	14,13	285,43	0
12	19,00	B: 1,20	15,85	301,15	† :40
13		A: 1,15			⊗
\bar{X} 21,46		\bar{X} 15,73		Σ 3709	\bar{X} 43

Ratones válidos: R₂→R₁₂+R₁₃ †: Muerte

A: Anti $-\log$ 1,15 = 14,13 ⊗: Punto Final

B: Anti $-\log$ 1,20 = 15,85 \bar{X} : Promedio

C: Anti $-\log$ 1,25 = 17,78 Σ : Sumatoria



Gráfica 1. Dosis Letal (DL₅₀) del veneno de *Crotalus durissus vegrandis* en ratones BALB'c (♀), administrado por VIP para 60 minutos de observación.

Ratones hembra, del modelo mrido BALB'c, con pesos entre 15,78 y 26,00 fueron inyectados VIP con el veneno de *Crotalus durissus vegrandis*. 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):

BALB'c (DL₅₀ VIP, 60 minutos) = 15,85 (14,99-15,96) mg/kg de ratón

ndice de Variabilidad = 6,12%

Tabla 2. Frecuencia de muerte inducida por el veneno de *Crotalus durissus vegrandis* en el modelo mrido BALB'c (♀) según la dosis administrada por VIP.

N de ratón	Anti-Log dosis (mg·kg de ratón)		
	14,13 Dosis A	15,85 Dosis B	17,78 Dosis C
	Corrida no valida		
1	0	-	-
	Corrida valida		
2	-	†:34	-
3	0	-	-
4	-	0	-
5	-	-	†:54
6	-	0	-
7	-	-	†:42
8	-	†:30	-
9	0	-	-
10	-	†:57	-
11	0	-	-
12	-	†:40	-
	Punto final		
13	⊗	-	-

Datos validos n=6 [†]	0	4	2
Frecuencia de muerte [†]=100%	-	66,7	33,3

†= Indica tiempo de muerte en minutos.

0: Indica sobrevivencia.

⊗Indica punto final

Tabla 3. Datos para el cálculo de La Dosis Letal (DL_{50}) del veneno de *Crotalus durissus vegrandis* en ratones NMRI (\varnothing), administrado por VIP para 60 minutos de

18	32,5	D:	1,30	19,95	648,37	†:30			
19		C:	1,25			⊗			
		\bar{X}	30,78	\bar{X}	17,93	Σ	8644,05	\bar{X}	43
Ratón	Peso	Dosis	Dosis	Dosis Total	Muerte				
(n)	(g)	(Anti $-\log$)	($\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$)	(μg)	(min)				
Corrida No Válida									
1	26,2	A:	1,15	14,13	370,21	0			
2	27	B:	1,20	15,85	427,95	0			
3	20,1	C:	1,25	17,78	357,38	0			
SUB – TOTAL					1155,54				
Corrida Válida									
4	21,27	D:	1,30	19,95	424,34	†:55			
5	23,45	C:	1,25	17,78	416,95	0			
6	36,40	D:	1,30	19,95	726,18	0			
7	40,9	E:	1,35	22,39	915,75	†:45			
8	34,2	D:	1,30	19,95	682,29	†:30			
9	30,4	C:	1,25	17,78	540,51	†:60			
10	28,99	B:	1,20	15,85	458,06	†:44			
11	32,2	A:	1,15	14,13	454,98	0			
12	35,95	B:	1,20	15,85	569,80	†:50			
13	34,45	A:	1,15	14,13	486,78	0			
14	32,1	B:	1,20	15,85	508,79	0			
15	32,1	C:	1,25	17,78	570,74	0			
16	31,3	D:	1,30	19,95	624,43	†:28			
17	34,65	C:	1,25	17,78	616,08	0			

observación.

Ratones válidos: R4→ R18+R19

†: Muerte

A: Anti $-\log$ 1,15 = 14,13

⊗: Punto Final

B: Anti $-\log$ 1,20 = 15,85

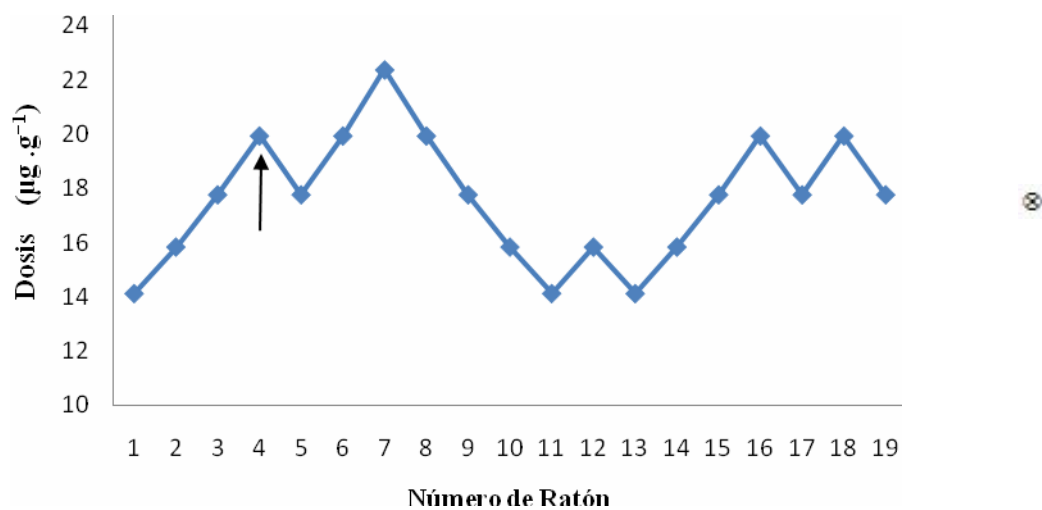
\bar{x} : Promedio

C: Anti $-\log$ 1,25 = 17,78

Σ : Sumatoria

D: Anti $-\log$ 1,30 = 19,95

E: Anti $-\log$ 1,35 = 22,39



Gráfica 2. Dosis Letal (DL₅₀) del veneno de *Crotalus durissus vegrandis* ratones NMRI (♀),

administrado por VIP para 60 minutos de observación.

Ratones hembra, del modelo mrido NMRI, con pesos entre 20,1 y 40,90 fueron inyectados VIP con el veneno de *Crotalus durissus vegrandis*. 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):

NMRI (DL₅₀ VIP, 60 minutos) = 17,90 (17,04 -18,87) mg/kg de ratón

ndice de Variabilidad = 10,22%



Tabla 4. Frecuencia de muerte inducida por el veneno de *Crotalus durissus vegrandis* en el modelo mrido NMRI (♀) según la dosis administrada por VIP.

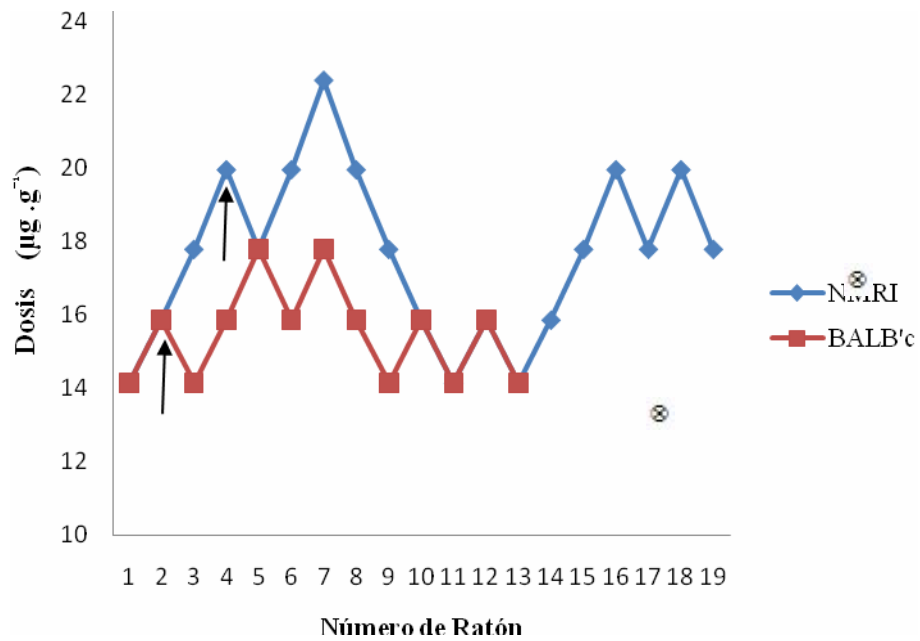
N de ratón	Anti-Log dosis (mg·kg de ratón)				
	14,13	15,85	17,78	19,95	12,39
	Dosis A	Dosis B	Dosis C	Dosis D	Dosis E
Corrida no valida					
1	0	-	-	-	-
2	-	0	-	-	-
3	-	-	0	-	-
Corrida valida					
4	-	-	-	†:55	-
5	-	-	0	-	-
6	-	-	-	0	-
7	-	-	-	-	†:45
8	-	-	-	†:30	-
9	-	-	†:60	-	-
10	-	†:44	-	-	-
11	0	-	-	-	-
12	-	†:50	-	-	-
13	0	-	-	-	-
14	-	0	-	-	-
15	-	-	0	-	-

16	-	-	-	†28	-
17	-	-	0	-	-
18	-	-	-	†:30	-
		Punto	final		
19	-	-	⊗	-	-
Datos validos n=8 [†]	-	2	1	4	1
Frecuencia de muerte [†]=100%	-	25	12,5	50	12,5

†= Indica tiempo de muerte en minutos.

0: Indica sobrevivencia.

⊗Indica punto final

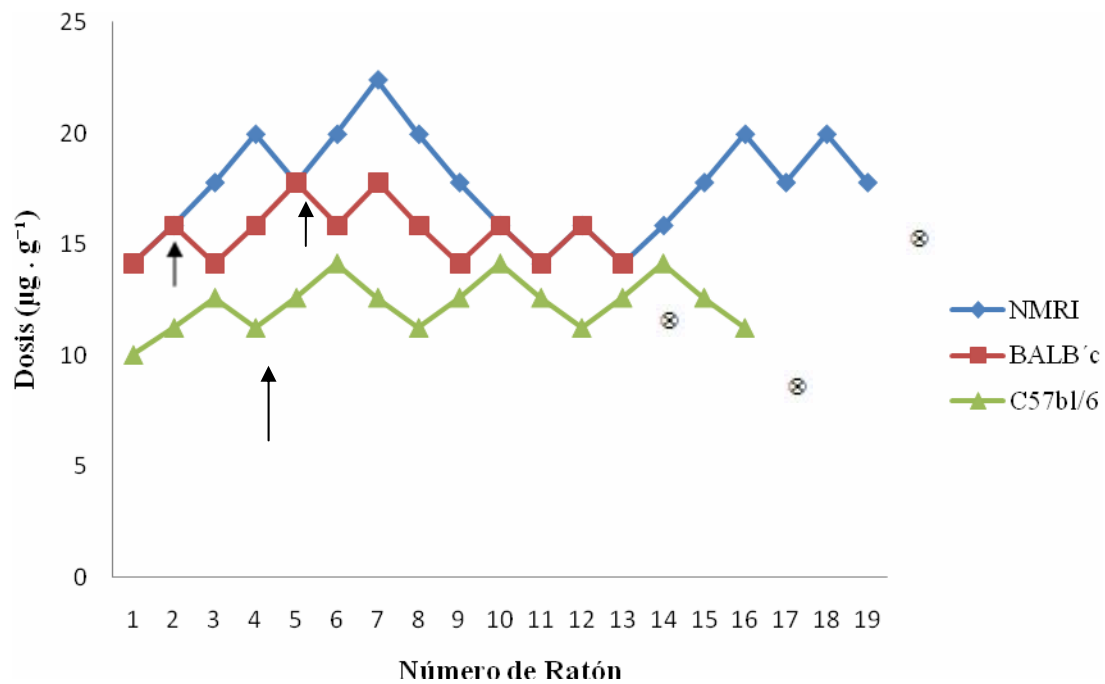


Gráfica 3. Comparación de las Dosis Letales (DL₅₀) del veneno de *Crotalus durissus vegrandis* en ratones BALB'c y NMRI (♀), administrado por VIP para 60 minutos de observación.

Ratones hembra, de los modelos múridos BALB'c y NMRI, fueron inyectados VIP con el veneno de *Crotalus durissus vegrandis*. Los animales fueron observados por 60 minutos. Las flechas indican los puntos 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):

BALB'c (DL₅₀ VIP, 60 minutos) = 15,85 (14,99-15,96) mg/kg de ratón. I.V = 6,12%

NMRI (DL₅₀ VIP, 60 minutos) = 17,90 (17,04 -18,87) mg/kg de ratón. I.V = 10,22%



Gráfica 4. Comparación de las Dosis Letales (DL_{50}) del veneno de *Crotalus durissus vegrandis* en ratones BALB'c, NMRI y C57bl/6 (♀), administrado por VIP para 60 minutos de observación.

Ratones hembra, de los modelos múridos BALB'c, NMRI y C57bl/6, fueron inyectados VIP con el veneno de *Crotalus durissus vegrandis*. Los animales fueron observados por 60 minutos. Las flechas indican los puntos 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):

BALB'c (DL₅₀ VIP, 60 minutos) = 15,85 (14,99-15,96) mg/kg de ratón. I.V = 6,12%

NMRI (DL₅₀ VIP, 60 minutos) = 17,90 (17,04 -18,87) mg/kg de ratón. I.V = 10,22%

C57bl/6 (DL₅₀ VIP, 60 minutos) = 12,58 (11,90 -13,35) mg/kg de ratón. I.V = 11,52%

Tabla 5. Manifestaciones clínicas de toxicidad observadas en ratones NMRI y BALB´c (♀) en 60 minutos de observación inducidos por la administración VIP del veneno de *Crotalus durissus vegrandis*.

Manifestaciones clínicas	Nº de ratones		Aparición en %		X de tiempo en minutos	
	NMRI	BALB´c	NMRI	BALB´c	NMRI	BALB´c
Hipoactividad	11	11	77,3	100	17	12
Defecación pastosa	10	10	66,7	90,9	15	14
Cianosis	11	9	73,3	81,8	23	24
Postración	2	6	13,3	54,6	35	32
Taquipnea	14	9	93,3	81,8	12	9
Hipopnea	-	7	-	63,6	-	32
Apnea	8	3	53,3	27,3	43	36
Mioclonias	3	5	20	45,5	38	25
Atáxia del trén posterior	9	2	60	18,2	22	26
Paresia	-	8	-	72,7	-	31
Convulsión	-	-	-	-	-	-
Espasmos	3	1	20	9,1	43	30
Parálisis (en extensión)	3	-	20	-	24	-
Muerte	8	6	53,3	54,6	43	43

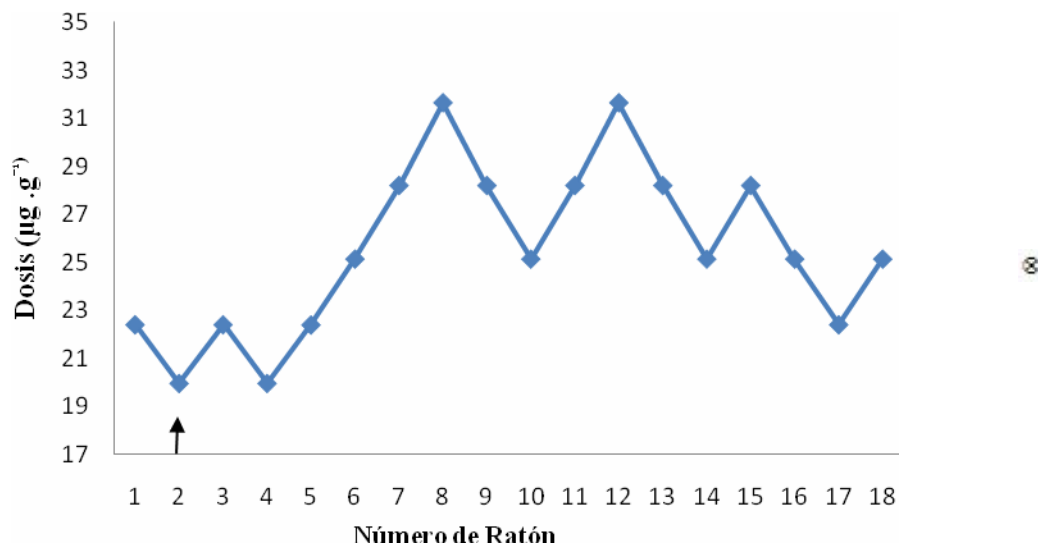
18		C: 1,40			⊗
Ratón	Peso	Dosis	Dosis	Dosis Total	Tiempo
(n)	(g)	(Anti -log)	($\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$)	(μg)	(min)
	18,60		25,51	22,00	18,5
Corrida No Válida					
1	15,79	B: 1,35	22,39	353,54	† :43
SUB - TOTAL				353,54	
Corrida Válida					
2	19,34	A: 1,30	19,95	385,83	0
3	17,80	B: 1,35	22,39	398,50	† :45
4	19,80	A: 1,30	19,95	395,01	0
5	18,24	A: 1,35	22,38	408,21	0
6	20,18	C: 1,40	25,12	506,92	0
7	20,53	D: 1,45	28,18	578,54	0
8	17,40	E: 1,50	31,62	550,19	† :55
9	17,30	D: 1,45	28,18	487,51	† :35
10	19,10	C: 1,40	25,12	479,79	0
11	22,50	D: 1,45	28,18	634,05	0
12	18,00	E: 1,50	31,62	569,16	† :55
13	20,70	D: 1,45	28,18	583,33	† :29
14	16,20	C: 1,40	25,12	406,90	0
15	16,46	D: 1,45	28,18	463,80	† :44
16	17,85	C: 1,40	25,12	448,39	† :58
17	19,05	B: 1,35	22,39	426,53	0

Tabla 6. Datos para el cálculo de La Dosis Letal (DL_{50}) del veneno de *Crotalus durissus cumanensis* en ratones BALB'c (♀), administrado por VIP para 60 minutos de observación.

Ratones válidos: R2→R17+R18 C: Anti $-\log 1,40 = 25,12$ †: Muerte Σ : Sumatoria

A: Anti $-\log 1,30 = 19,95$ D: Anti $-\log 1,45 = 28,18$ \otimes : Punto Final

B: Anti $-\log 1,35 = 22,39$ E: Anti $-\log 1,50 = 31,62$ \bar{x} : Promedio



Gráfica 5. Dosis Letal (DL_{50}) del veneno de *Crotalus durissus cumanensis* en ratones BALB'c (♀), administrado por VIP para 60 minutos de observación.



Ratones hembra, del modelo mrido BALB'c, con pesos entre 15,79 y 22,50 fueron inyectados VIP con el veneno de *Crotalus durissus cumanensis*. 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):

BALB'c (DL₅₀ VIP, 60 minutos) = 25,29 (24,07-26,65) mg/kg de ratón

ndice de Variabilidad = 10,20%

Tabla 7. Frecuencia de muerte inducida por el veneno de *Crotalus durissus cumanensis* en el modelo mrido BALB'c (♀) según la dosis administrada por VIP.

N de ratón	Anti-Log dosis (mg·kg de ratón)				
	19,95 Dosis A	22,39 Dosis B	25,12 Dosis C	28,18 Dosis D	31,62 Dosis E
	Corrida no valida				
1	0	-	-	-	-
	Corrida valida				
2	†:61	-	-	-	-
3	-	†:45	-	-	-
4	0	-	-	-	-
5	-	0	-	-	-
6	-	-	0	-	-
7	-	-	-	0	-
8	-	-	-	-	†:55
9	-	-	-	†:35	-
10	-	-	0	-	-
11	-	-	-	0	-

12	-	-	-	-	†:55
13	-	-	-	†:29	-
14	-	-	0	-	-
15	-	-	-	†:44	-
16	-	-	†:58	-	-
17	-	0	-	-	-
		Punto	final		
18	-	-	⊗	-	-
Datos					
validos n=8	1	1	1	3	2
[†]					
Frecuencia					
de muerte	12,5	12,5	12,5	37,5	25
[†]=100%					

†= Indica tiempo de muerte en minutos.

0: Indica sobrevivencia.

⊗Indica punto final

Tabla 8. Datos para el cálculo de La Dosis Letal (DL₅₀) del veneno de *Crotalus*

Ratón (n)	Peso (g)	Dosis (Anti -log)	Dosis ($\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$)	Dosis Total (μg)	Muerte (min)
<i>durissus cumanensis</i> en ratones NMRI (♀), administrado por VIP para 60 minutos de observación.					
Corrida No Válida					
1	29,55	B: 1,05	11,22	331,55	0
SUB – TOTAL				331,55	
Corrida Válida					
2	32,38	C: 1,10	12,58	407,34	† :52
3	35,68	B: 1,05	11,22	400,33	† :53
4	37,80	A: 1,00	10,00	378,00	0
5	33,90	B: 1,05	11,22	380,35	† :44
6	38,25	A: 1,00	10,00	382,50	0
7	35,50	B: 1,05	11,22	398,31	† :58
8	34,5	A: 1,00	10,00	345,00	0
9	31,80	B: 1,05	11,22	356,79	0
10	32,6	C: 1,10	12,58	410,10	0

11	34,00	B: 1,05	11,22	381,48	0
12	32,80	C: 1,10	12,58	412,62	† :56
13		B: 1,05			⊗
<hr/>					
	\bar{X} 34,06		\bar{X} 11,25	Σ 4552,82	\bar{X} :53

Ratones válidos: $R_2 \rightarrow R_{12} + R_{13}$

†: Muerte

A: Anti $-\log$ 1,00 = 10,00

⊗: Punto Final

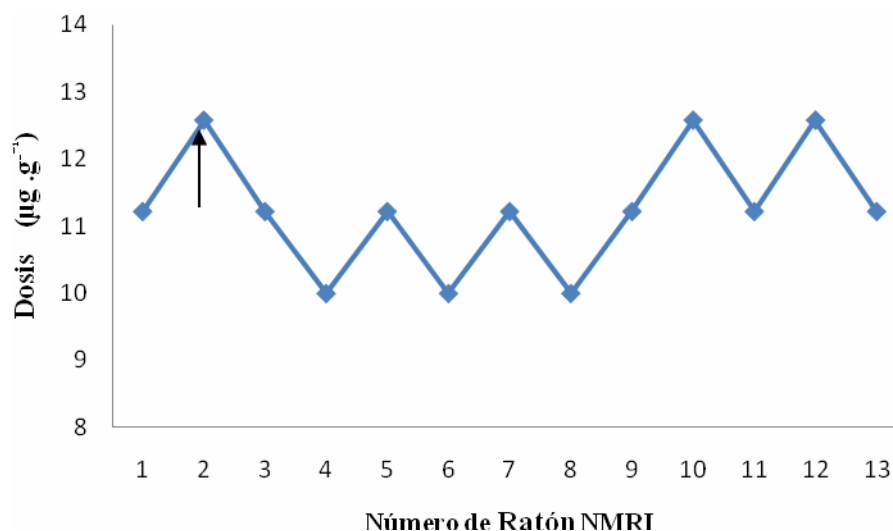
B: Anti $-\log$ 1,05 = 11,22

\bar{X} : Promedio

C: Anti $-\log$ 1,10 = 12,25

Σ : Sumatoria





Gráfica 6. Dosis Letal (DL₅₀) del veneno de *Crotalus durissus cumanensis* en ratones NMRI (♀), administrado por VIP para 60 minutos de observación.

Ratones hembra, del modelo mürido NMRI, con pesos entre 29,55 y 38,25 fueron inyectados VIP con el veneno de *Crotalus durissus cumanensis*. 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):

NMRI (DL₅₀ VIP, 60 minutos) = 11,22 (10,61-11,90) mg/kg de ratón

Índice de Variabilidad = 11,5%

Tabla 9. Frecuencia de muerte inducida por el veneno de *Crotalus durissus cumanensis* en el modelo mrido NMRI (♀) según la dosis administrada por VIP.

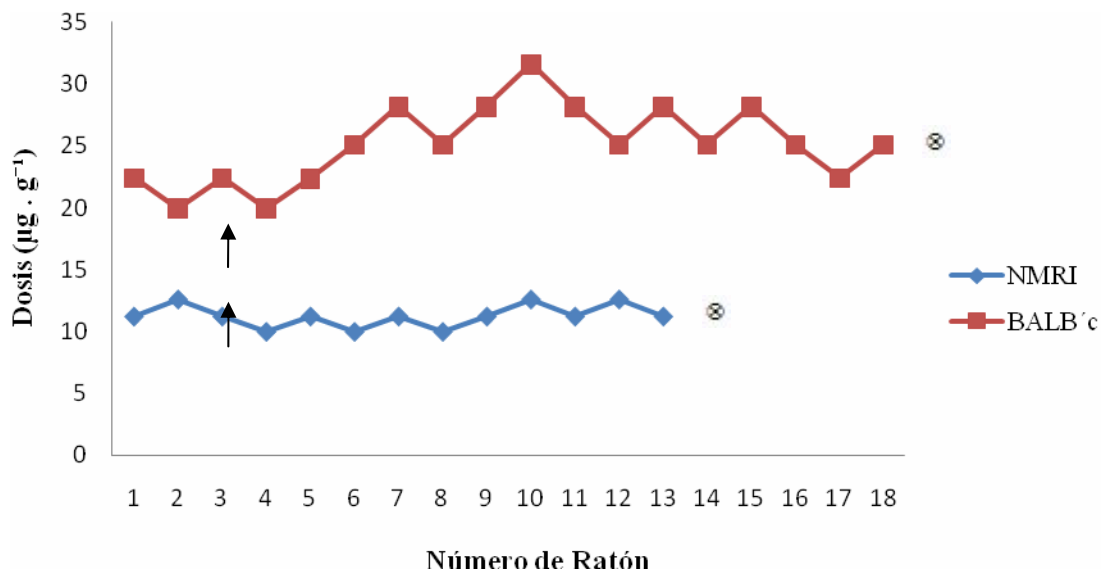
N de ratón	Anti-Log dosis (mg·kg de ratón)		
	10	11,22	12,58
	Dosis A	Dosis B	Dosis C
	Corrida no valida		
1	-	0	-
	Corrida valida		
2	-	-	†:52
3	-	†:53	-
4	0	-	-
5	-	†:58	-
6	0	-	-
7	-	†:58	-
8	0	-	-
9	-	0	-
10	-	-	†:45

11	-	0	-
12	-	-	†:56
	Punto final		
13	-	⊗	-
Datos validos n=6	0	3	3
[†]			
Frecuencia de muerte [†]=100%	-	50	50

†= Indica tiempo de muerte en minutos.

0: Indica sobrevivencia.

⊗Indica punto final

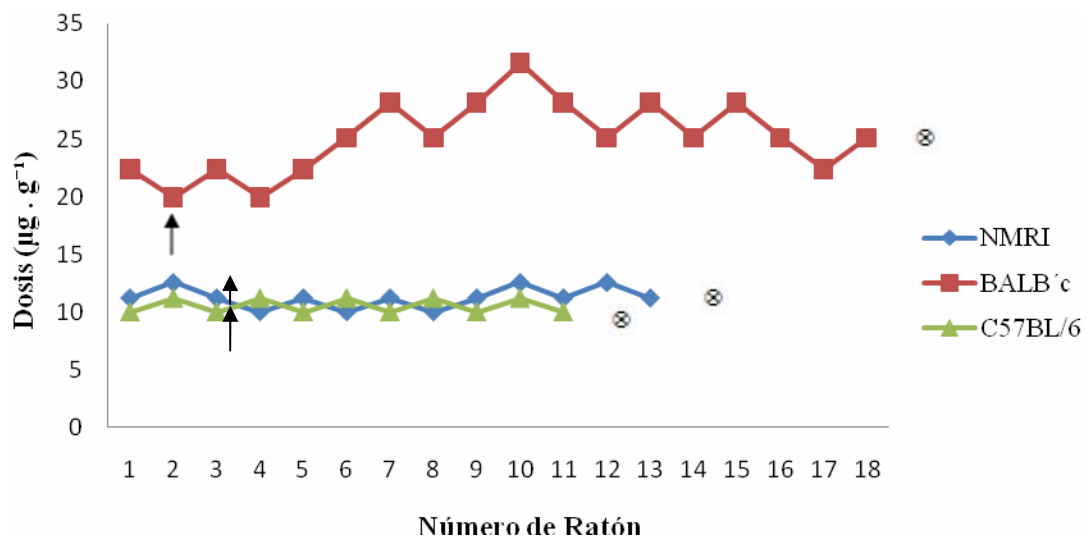


Gráfica 7. Comparación de las Dosis Letales (DL_{50}) del veneno de *Crotalus durissus cumanensis* en ratones BALB'c y NMRI (♀), administrado por VIP para 60 minutos de observación.

Ratones hembra, de los modelos múridos BALB'c y NMRI, fueron inyectados VIP con el veneno de *Crotalus durissus vegrandis*. Los animales fueron observados por 60 minutos. Las flechas indican los puntos de inflexión e inicio de los datos válidos para el cálculo de la DL_{50} . El resultado se presenta como la mediana y sus límites para un 95% de confianza (entre paréntesis):

BALB'c (DL_{50} VIP, 60 minutos) = 25,29 (24,07-26,65) mg/kg de ratón. I.V = 10,20%

NMRI (DL_{50} VIP, 60 minutos) = 11,22 (10,61-11,90) mg/kg de ratón. I.V = 11,49%



Gráfica 8. Comparación de las Dosis Letales (DL_{50}) del veneno de *Crotalus durissus cumanensis* en ratones BALB'c, NMRI y C57bl/6 (♀), administrado por VIP para 60 minutos de observación.

Ratones hembra, de los modelos murinos BALB'c, NMRI y C57bl/6, fueron inyectados VIP con el veneno de *Crotalus durissus vegrandis*. Los animales fueron observados por 60 minutos. Las flechas indican el punto de inflexión e inicio de los datos válidos para el cálculo de la DL_{50} . El resultado se presenta como la mediana y sus límites para un 95% de confianza (entre paréntesis):

BALB'c (DL_{50} VIP, 60 minutos) = 25,29 (24,07-26,65) mg/kg de ratón. I.V = 10,20%

NMRI (DL₅₀ VIP, 60 minutos) = 11,22 (10,61-11,90) mg/kg de ratón. I.V = 11,5%

C57bl/6 (DL₅₀ VIP, 60 minutos) = 10,6 (10,0-11,2) mg/kg de ratón. I.V = 11,32%

Tabla 10. Manifestaciones clínicas de toxicidad observadas en ratones NMRI y BALB´c (♀) en 60 minutos de observación inducidos por la administración VIP del veneno de *Crotalus durissus cumanensis*.

Manifestaciones clínicas	Nº de ratones		Aparición en %		X̄ de tiempo en minutos	
	NMRI	BALB´c	NMRI	BALB´c	NMRI	BALB´c
Hipoactividad	11	10	100	62,5	12	10
Defecación pastosa	7	13	63,6	81,3	14	13
Cianosis	11	14	100	87,5	25	24
Postración	3	5	27,3	31,3	38	27
Taquipnea	11	16	100	100	5	12
Hipopnea	1	13	9,1	81,3	32	36
Apnea	5	3	45,5	18,8	49	41
Mioclonias	3	5	27,3	31,3	14	23
Atáxia del trén posterior	8	3	72,7	18,8	35	12
Paresia	-	9	-	56,3	-	12
Convulsión	1	1	6,7	9,1	26	17
Espasmos	-	-	-	-	-	-
Parálisis (en extensión)	5	-	45,5	-	41	-
Muerte	6	8	54,6	50	54	48

Tabla 11. Comparación de la variabilidad del veneno de *Crotalus durissus vegrandis* y *Crotalus durissus cumanensis* en los tres modelos múridos y gasto de material biológico.

Serpiente	BALB'c			NMRI			C57bl/6		
	n°	µg	I.V%	n°	µg	I.V%	n°	µg	I.V%
<i>C.d. vegrandis</i>	11	3709	6,12	15	8644,1	10,22	13	2957,5	11,52 †
<i>C.d. cumanensis</i>	16	7722,7	10,2	11	4252,8	11,49	9	2285,5	11,32 *
Σ	27	11432	-	26	12897	-	22	5243	-

n°= Número de ratones.

µg= Dosis total del veneno que se gastó.

I.V= Índice de variabilidad.

†= Valerio, M (2007).

* = Baldi, P y Chalhoud, Y (2007).

4.2 DISCUSIÓN

En el mundo existen más de 3000 especies de serpientes, de las cuales el 10% son venenosas y responsables de las mordeduras en humanos, causando aproximadamente 3 millones de accidentes por año, con más de 150.000 muertes, hecho de gran importancia en los trópicos, donde la población más afectada es la del área rural (White, 2000) y por lo tanto de mayor interés epidemiológico por ser responsables del 90-95% de los envenenamientos son las serpientes de la familia Viperidae (Otero, 2006). Es por eso que la caracterización de los venenos de vipéridos es necesario para el entendimiento de los procesos fisiopatológicos que se producen ante su mordedura (Roodt y col, 2005). Adicionalmente es importante estudiar la composición química y la acción tóxica de un veneno, ya que permite acercarse al conocimiento de su fisiología y fisiopatología, y ofrecer una guía en el tratamiento apropiado contra el envenenamiento causado por el mismo (Málaga y col, 2000).

Los venenos de las serpientes poseen una composición variable, existiendo diferencias importantes en las actividades enzimáticas y en los efectos locales y sistémicos no sólo entre distintas especies de la misma familia, sino también diferencias intraespecie entre ejemplares de distintas zonas geográficas (Pirela de Salas y col, 2006).

Una forma inicial de caracterizar el veneno de estos crotálicos es determinar la Dosis Letal Cincuenta (DL_{50}). Este índice indica la cantidad requerida de una droga o toxina que es capaz de producir la muerte en el cincuenta por ciento de una

población de animales experimentales (Ross, 1996). Su determinación es esencial para la estandarización de venenos y antivenenos de origen natural (Sevcik, 1987).

En diversos países se han realizado estudios sobre la variabilidad de los venenos de diferentes especies de serpientes. Se han encontrado diferencias en todos los niveles taxonómicos, siendo de mayor importancia la variabilidad intraespecífica (Saldarriaga y col, 2000). De igual forma, la DL_{50} de venenos varía conforme la vía de inyección, el animal experimental, género y especie de la serpiente y con la región geográfica que habitan (Furnaleta y col, 1973).

Este estudio se basó en la determinación y comparación de las DL_{50} del veneno de las especies *Crotalus durissus vegrandis* y *Crotalus durissus cumanensis*, en los modelos múridos NMRI y BALB'c, para compararlos con los ya previamente establecidos en el modelo múrido C57bl/6. La DL_{50} fue estimada por el método de Dixon y Mood (1948), modificado por Sevcik (1987).

Los resultados indicaron que la DL_{50} , del veneno de *Crotalus durissus vegrandis*, fue significativamente menor en ratones C57bl/6; que el obtenido en ratones BALB'c; y éste, menor que el conseguido en los NMRI (Figura 4), demostrando una mayor sensibilidad de C57bl/6 al efecto tóxico del veneno de esta especie. Con el veneno de *Crotalus durissus cumanensis* por su parte la DL_{50} , fue significativamente menor en ratones C57bl/6; y en los NMRI; que el conseguido en los BALB'c (Figura 8). Esto se corresponde con los resultados obtenidos por Hurtado, Montaña y Rodríguez (2008) con el veneno de un escorpión de la especie *Tityus nororientalis* donde la DL_{50} fue menor en ratones C57bl/6 ($DL_{50} = 8,43 \mu\text{g} \times \text{g}^{-1}$

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 BALB'c ($DL_{50} = 40,07 \mu\text{g} \times \text{g}^{-1}$ de ratón); demostrando una mayor sensibilidad de C57bl/6 al efecto tóxico del veneno de la especie en estudio. En Venezuela no existe hasta donde nosotros conocemos otros trabajos para comparar cepas de ratones con venenos de serpientes.

En estudios realizados en córalos venezolanos como: Pirela de Salas y col (2006), que demostraron que el veneno de *Crotalus durissus cumanensis* presenta una DL_{50} de 0,210 mg/Kg, en la localidad de Porshoure, de la Guajira venezolana, mientras que Montilla (1999), reporta un valor de 0,789 mg/Kg, de un pool de veneno obtenido de serpientes de cascabel de distintas zonas del Estado Zulia. Por otro lado, Saravia y col (2002) determinaron un valor de DL_{50} de 0,176 mg/Kg, con *Crotalus durissus cumanensis* de la Villa del Rosario, Estado Zulia y Hernández y col (2005) concluyeron que el veneno total de la serpiente de cascabel *Crotalus durissus cumanensis*, procedente de la localidad de Caruachi, Estado Bolívar, presentó una DL_{50} de 0,140 mg/Kg de peso. Estos fueron calculados en ratones albinos BALB'c pero para 24 o 48 horas de observación por lo que no pueden compararse con nuestra investigación.

Como ya se explicó, las principales manifestaciones clínicas causadas por la mordedura de serpientes y en especial de las cascabeles son generalmente atribuidas a los efectos neurotóxicos de su veneno, la miotoxicidad sistémica (ocasionada fundamentalmente por fosfolipasas A_2) y a los efectos sobre la hemostasia (Saravia y col 2002).

Las manifestaciones clínicas más frecuentes y de más temprana aparición en las 2 especies estudiadas y en ambos modelos múridos fueron taquipnea e hipoactividad, esto hace pensar que no se deben al efecto neurotóxico, ya que muchos autores refieren dolor local como la primera manifestación que aparece en los envenenamientos crotálicos (Mondolfi, 1966; Pifano 1975 y Lancini 1986) Los modelos múridos utilizados en esta investigación fueron inyectados por vía intraperitoneal por lo que el dolor provocado a nivel abdominal puede ser el causante de estas manifestaciones. La aparición precoz de estas manifestaciones se correlaciona con los resultados obtenidos por Astudillo y Bejarano (2008), Baldi y Chalhoud (2007), Valerio (2007) y Acosta, Cayamo y Graziani (2008).

Otra manifestación de frecuente aparición fue la defecación pastosa que se presentó entre un 66,7 y 90,9% en los modelos múridos inyectados con los venenos de ambas especies estudiadas; lo que se correlaciona con el resultado de Valerio (2007) quien obtuvo 46,2%.

Otros signos clínicos evidentemente neurológicos fueron las mioclonias que se presentaron con una frecuencia que varió de 20 a 45% en ambas especies estudiadas, esto se relaciona con los obtenidos por Valerio (2007) donde aparecieron con una frecuencia aproximada de 61%, al contrario de los obtenidos por Acosta, Cayamo y Graziani (2008) donde la frecuencia de aparición fue de 100%. Esto posiblemente se explica por la presencia de neurotoxinas y más específicamente por la crotovina en el veneno de crótalos. Esta neurotoxina presináptica debe alcanzar la unión neuromotora, unirse a la membrana del axón terminal, causar una descarga de acetilcolina para producir mioclonias y fasciculaciones (Santoro y col 1997).

Las convulsiones no fueron observadas en los modelos múridos inyectados con el veneno de *Crotalus durissus vegrandis* y si se presentó en los que fueron inyectados con el veneno de *Crotalus durissus cumanensis* con una frecuencia que varió de 6,67 a 9,09% esto puede tener relación con la presencia de convulxina; otra neurotoxina que produce convulsiones y está presente en muchas especies de cascabel (Varanda y Soares 1994). Esto guarda cierta relación con los resultados obtenidos por Baldi y Chalhoud (2007) en *Crotalus durissus cumanensis* y por Acosta, Cayamo y Graziani (2008) en *Crotalus durissus pifanorun* donde obtuvieron frecuencias altas de aparición (52,9 y 63,6% respectivamente).

Otras manifestaciones clínicas observadas son hipopnea, apnea y cianosis, esta última se presentó con mucha frecuencia en ambas especies entre (100 y 87%) esto se cree que es debido al efecto paralizante del veneno sobre la musculatura respiratoria, todas aparecieron después de veinte minutos de experimentación.

La muerte se presentó con una frecuencia de más de 50% en ambas especies estudiadas, esto se debe al método de subir y bajar la dosis de veneno lo que hace que todos los ratones de la corrida válida estén cercanos a la DL_{50} .

En forma general las manifestaciones que se presentaron con mayor frecuencia posterior a la administración del veneno de las dos especies estudiadas fueron hipoactividad, taquipnea, cianosis y defecación pastosa, esto se relaciona con los resultados obtenidos por Hernández y col (2005) donde las principales manifestaciones fueron las propias de un veneno neurotóxico.

Con respecto al consumo de material biológico, el modelo m¿rido C57bl/6 presentó un menor gasto de veneno y de ratones en ambas especies estudiadas, esto se relaciona con el trabajo de Hurtado, Montañó y Rodríguez (2008) realizado con la especie *Tityus nororientalis*, donde tomando en cuenta la corrida no v¿lida + v¿lida, fue significativamente menor para C57bl/6 (2,7 mg) que para NMRI (12,0 mg) o BALB'c (13,6 mg).

CAPITULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 CONCLUSIONES

1. La toxicidad experimental aguda, cuando se estudió el veneno de estas cascabeles, es dependiente de cada modelo murido estudiado.
2. La DL_{50} del veneno de ambas especies fue menor en el C57bl/6, es decir, que esta cepa es la más sensible al veneno de las cascabeles.
3. Para el veneno de *Crotalus durissus cumanensis* el ratón más resistente fue BALB´c mientras que para *Crotalus durissus vegrandis* fue NMRI.
4. Las manifestaciones clínicas que más se observaron después de la administración de ambos venenos de cascabel fueron hipoactividad, taquipnea, cianosis y defecación pastosa con frecuencias de aparición, que no son relevantes entre las dos cepas de ratón estudiadas.
5. Con respecto al veneno de ambas cascabeles, el gasto de material biológico, en cuanto al número de ratones fue menor en C57bl/6.

6. En la especie *Crotalus durissus vegrandis* el gasto de veneno fue mayor para la cepa NMRI, mientras que para *Crotalus durissus cumanensis*, lo fue la cepa BALB'c.

7. En relación a *Crotalus durissus vegrandis* se observó mayor variabilidad en la cepa C57bl/6 y menor en BALB'c. Pero, con el veneno de *Crotalus durissus cumanensis* resultó más variable la cepa NMRI y menos variable BALB'c.

5.2 RECOMENDACIONES

El presente trabajo después de comparar tres modelos múridos en dos sub-especies de *Crotalus durissus*, sugiere a la cepa C57bl/6 como un excelente modelo funcional para evaluar la toxicidad aguda experimental, causada por los venenos de *Crotalus durissus vegrandis* y *Crotalus durissus cumanensis*. Recomendación similar fue propuesta por Hurtado, Montaña y Rodríguez (2008) para el estudio de venenos de algunos escorpiones. Aunque la cepa C57bl/6 presenta mayor variabilidad en la DL_{50} con relación a BALB/c y NMRI; la primera es más útil por su sensibilidad lo cual implica un menor consumo de veneno para la determinación de la DL_{50} , motivado a ello y con la finalidad de disminuir el gasto de veneno y modelos múridos se propone que el método de Dixon y Mood (1948) modificado por Sevcik (1987) sea utilizado en las próximas investigaciones para el cálculo de la DL_{50} ya que también disminuye el tiempo de experimentación, por lo que resulta un método práctico para realizar estas investigaciones.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ACOSTA L, Y CAYAMO y D GRAZIANI. Efectos biológicos y DL₅₀ del veneno de *Crotalus durissus pifanorum*; estudio comparativo entre ejemplares juveniles y adultos. Trabajo de grado. Universidad de Oriente, 2008.
2. ASTUDILLO Y y M BEJARANO. Efectos biológicos y DL₅₀ del veneno de *Bothrops colombiensis*; estudio compartivo entre ejemplares juveniles y adultos. Trabajo de grado. Universidad de Oriente, 2008.
3. BALDI P y Y CHALHOUB. Efectos biológicos y DL₅₀ del veneno de *Crotalus durissus cumanensis*; estudio comparativo entre ejemplares juveniles y adultos. Trabajo de grado. Universidad de Oriente, 2007.
4. BARRAVIERA B. Venenos animais. Uma visão integrada. Ed publicacoes científicas, 1era edición, Río de Janeiro, 1994.
5. BOGARIN G, M ROMERO, G ROJAS y col. Neutralization, by a monoespecific *Bothrops lanceolatus* antivenom, of toxic activities induced by homologous and heterologous *Bothrops* snake venoms. *Toxicon*, 1999; 37: 551-557.
6. CAMPBELL J y W LAMAR. The venomous reptiles of de western hemisphere. 2° edición. Cornell University Press, Ithaca, New York, 2004.
7. DIXON WJ y AM MOOD. A method for obtaining and analyzing sensitivity data. *J. Amer Stat. Assoc*, 43: 109-126, 1948.
8. FURNALETTO R, S ROLIM-ROSA, R. SILES-VILLARROEL, F ZELANTE. Contribuição ao estudo da determinação da DL50 de venenos

botrópicos inoculados por vía venosa em camundongos – *Mus musculus*-Linnaes, Mem Inst Butantan, 37: 109-122, 1973.

9. GALLAZI M, P SPENCER, P ROGERO y col. Co-gamma irradiation prevents *Bothrops jararacussu* venoms, neurotoxicity and myotoxicity in isolated mouse neuromuscular junction. *Toxicon*, 40: 1101-1106, 2002.
10. GARCÍA PÉREZ J. Una Nueva Especie de Cascabel (SERPENTES: *Crotalidae*) para el bolsón árido de Lagunillas, Cordillera de Mérida. Venezuela. Universidad de los Andes, Mérida, Venezuela, 1995.
11. GUTIÉRREZ JM, G ROJAS y R AYMERICH. El envenenamiento ofídico: Fisiología y tratamiento. Publicaciones de la Universidad de Costa Rica, Facultad de Microbiología, Instituto Clodomiro Picado, 1996.
12. HERNANDEZ M, JH FINOL, JC LOPEZ. Alteraciones ultraestructurales de tejido cardíaco tratado con veneno crudo de serpiente de cascabel (*Crotalus durissus cumanensis*). *RFM*, vol.28, no.1, p.12-16. ISSN 0798-0469, 2005.
13. HURTADO A, L MONTAÑO Y F RODRÍGUEZ. Comparación de la actividad biológica y DL₅₀ del veneno de *Tityus nororientalis* (Scorpiones, Buthidae) en ratones albinos de las cepas NMRI y BALB´c. Trabajo de grado. Universidad de Oriente, 2008.
14. KIRIAKOS D. Envenenamiento ofídico en el Hospital Universitario Luís Razetti en el período 1989-1992. Trabajo de Post-grado. Universidad de Oriente, 1993.
15. LANCINI A. Serpientes de Venezuela. Ernesto Armitano Ed. Caracas, 1986.
16. LANCINI A y P KORNACKER. Die Schlangen von Venezuela. Verlag Armitano Ed.C.A. Caracas, 1989.

17. MÁLAGA O, C PANTIGOSO Y V EREDIA. Variaciones en la composición proteica, actividades enzimáticas y biológicas del veneno de la serpiente *Bothrops atrox* (viperidae) en relación con la edad. Rev Per Biol, 7 (2): 56-62, 2001.
18. MARKLAND F. Snake venoms and hemostatic system. Toxicon, 45(8): 1021-1039, 1998.
19. MONDOLFI, G. Emponzoñamiento ofídico en Venezuela, Arch Med Ped y Pueric, 29: 44-52, 1966.
20. MONTILLA J. Hiperinmunización de ovinos contra el veneno de la especie *Crotalus durissus cumanensis* del estado Zulia, Venezuela, Rev Cient, FCV-LUZ, IX (5): 388-394. 1999.
21. OTERO R. Accidentes por animales venenosos. Manual de Urgencias en Pediatría, 98: 1, 2006.
22. PÉREZ RAMOS E, A CARBAJAL-SAUCEDO y H RIVAS-GARCIA. Serpientes venenosas, reconocimiento y tratamiento general de su mordedura. Revista Digital Universitaria. ISSN, 1607-6079, 2000.
23. PIFANO, F .Accidentes producidos por serpientes venenosas de Venezuela. Memorias de la reunión: actualización sobre el problema ofídico en Venezuela, San Felipe, Edo. Yaracuy, 1975.
24. PIRELA DE LAS SALAS R, JC LOPEZ-JONSTHON y J HERNANDEZ. Caracterización toxicológica de veneno total de la serpiente cascabel *Crotalus durissus cumanensis* (viperidae) presentes en la localidad de Porshoure, Guajira venezolana. Revista Científica, FCV-LUZ / Vol. XVI, N° 3. 232-238, 2006.

25. RODRÍGUEZ A, A MONDOLFI, R ORIHUELA y col ¿Qué hacer frente a un accidente ofídico?, Universidad Central de Venezuela, Caracas, 1995.
26. RODRÍGUEZ ACOSTA A. Los venenos y el síndrome de envenenamiento ofídico, instituto de Medicina Tropical, Universidad Central de Venezuela, Caracas, Venezuela, 1998.
27. ROODT A, J ESTÉVEZ-RAMÍREZ, J PANIAGUAS-SOLÍS, S LITWIN, A CARVAJAL SAUCEDO, J DOLAB, L ROBLES-ORTÍZ y A ALAGÓN. Toxicidad de venenos e serpientes de importancia médica en México. Gac Med Mex, 141 (1): 13-21, 2005.
28. ROSS M. Pharmacodynamics mechanisms of drug action and the relationship between drug concentrations and effect In: Hardman J, Limbird L, Molinoff P y Ruddon R, Goodman and Gilman the pharmacological basics of therapeutics, Ninth Edition, New York: Mac Graw-Hill, 29-41, 1996.
29. SALDARRIAGA M, OTERO R, NÚÑEZ V y TORO M. Variaciones ontogénicas y geográficas en los efectos tóxicos y en las características inmunoquímicas del serpientes del grupo atrox del Meta y Antioquia. Revista Iatreia, Vol. 13, N° 2. 2000.
30. SANDNER-MONTILLA F. Una nueva especie del género *Crotalus* (*Serpentes, Crotalidae, Crotalinae*) del Sur del Estado Guárico, Venezuela. Mem. Cient. Ofidiología, 5: 1-12, 1980.
31. SANTORO M, M SOUSA, L GONCALVEZ, S SANTOS, I FERREIRA, M SAIKI, C PERS e I SANO-MARTINS. Comparison of biological activities of three sub-especies (*C. d. terrificus*, *C. d. casbella* and *C. d. collilineatus*) of the south American rattlesnakes. J Venom Anim Toxins, 3 (1): 142, 1997.

32. SARAVIA P, E ROJAS, V ARCE, C GUEVARA, J LÓPEZ, E CHAVES, G ROJAS y J M GUTIÉRREZ. Geographic and ontogenic variability in the venoms of the neotropical rattlesnake *Crotalus durissus*: Pathophysiological and therapeutic implications, *Rev Biol Trop*, 50 (1): 337-346. 2002.
33. TORO G. A randomized double-blind clinical trial of two antivenom in patients bitten by *Bothrops atrox* in Colombia. *Toxicon*, 37: 895-909, 1999.
34. SEVCIK C. DL₅₀ determinations: objections to the method of Beccari as modified by Molinengo. *Toxicon*, 25 (7): 779-783, 1987.
35. VALERIO M. Efectos biológicos y DL-50 del veneno de *Crotalus durissus vegrandis* (Serpentes, Viperidae); Estudio comparativo entre ejemplares adultos y juveniles. Trabajo de grado. Universidad de Oriente, 2007.
36. VARANDA A y M SOARES. Bioquímica de venenos de serpentes. En: Barraviera V y cols, *Venenos animais. Uma visão integrada*. Ed publicacoes científicas, 1era edición, Río de Janeiro, 1994.
37. WHITE J. Bites and stings from venomous animals: A global overview; *Therap Drug Monit*, 22 (1): 65 – 68, 2000.

ANEXOS

ANEXO N° 1

UNIVERSIDAD DE ORIENTE
NÚCLEO DE ANZOÁTEGUI
ESCUELA DE MEDICINA

CENTRO DE INVESTIGACIONES EN CIENCIAS DE LA SALUD (CICS)

LABORATORIO DE TOXINOLOGÍA FICHA DE RESULTADOS



DL₅₀ MÉTODO:

EXPERIMENTO:

VENENO (ESPECIE, SEXO):

ANIMAL EXPERIMENTAL:

(Número del animal, peso, vía de inyección)

CÁLCULO DE DOSIS:

Factor		Dosis (volumen)

Tabla de Resultados:

Tiempo

Manifestaciones clínicas

01.	
02.	
03.	
04.	
05.	
06.	
07.	
08.	
09.	
10.	
11.	
12.	
13.	
14.	
15.	
15.	
16.	
17.	

Anexo nº 2



Figura nº 1. Extracción del veneno de serpiente Solenoglyfa.

Anexo n° 3



Figura n° 2. Ejemplar de *Crotalus durissus cumanensis*.

Anexo n° 4



Figura n° 3. Ejemplar de *Crotalus durissus vegrandis*.

**METADATOS PARA TRABAJOS DE GRADO, TESIS Y
ASCENSO:**

TÍTULO	“DOSIS LETAL 50 DEL VENENO DE <i>crotalus durissus cumanensis</i> Y <i>crotalus durissus vegrandis</i> (SERPENTES, VIPERIDAE) EN LOS MODELOS MÚRIDOS NMRI Y BALB´C”
SUBTÍTULO	

AUTOR (ES):

APELLIDOS Y NOMBRES	CÓDIGO CULAC / E MAIL
Fuenmayor R., Ysandra Del V.	CVLAC: V-17.418.820 E MAIL: ysandra_26@hotmail.com
Salazar G., Marifrancy T.	CVLAC: V-16.397.494 E MAIL: marifrancy@hotmail.com

PALÁBRAS O FRASES CLAVES:

Dosis Letal cincuenta, Ratones, Venenos, Serpiente, Toxicidad aguda experimental, Vía intraperitoneal, Crotalus durissus cumanensis, Crotalus durissus vegrandis, Modelo múrido BALB´c, Modelo múrido NMRI, Modelo múrido C57bl/6, Métodos estadísticos no paramétricos o de libre distribución, Técnica de análisis de varianza de Kruskall-Wallis, Método de Dixon y Mood, Medianas, Limites de confianza, Índice de Variabilidad, Material biológico, Investigativa-Comparativa, Neurotóxico, Muerte, Punto final, Punto de inflexión, Corrida válida

METADATOS PARA TRABAJOS DE GRADO, TESIS Y ASCENSO:

ÁREA	SUBÁREA
Escuela de Ciencias de la Salud	Medicina

RESUMEN (ABSTRACT):

Se estudió la DL_{50} del veneno *Crotalus durissus cumanensis* y *Crotalus durissus vegrandis* en los modelos múridos NMRI y BALB'c vía intraperitoneal para una hora de observación y se comparó las DL_{50} y las manifestaciones clínicas con las ya previamente establecidas en el modelo C57bl/6, obteniendo como resultado que las DL_{50} del veneno de ambos ejemplares es menor en el C57bl/6 en comparación con NMRI y BALB'c, demostrando así su mayor sensibilidad al veneno. Se determinó una resistencia mayor del modelo múrido BALB'c al veneno de *Crotalus durissus cumanensis* mientras que para *Crotalus durissus vegrandis*, el más resistente fue NMRI. Las manifestaciones clínicas y la variabilidad de los experimentos no muestra mayores diferencias, pero, la cepa C57bl/6 fue la que requirió menos gasto de material biológico (veneno y ratones) para ambos venenos. Se concluye que el modelo múrido ideal para estudios de venenos de cascabel es el C57bl/6

METADATOS PARA TRABAJOS DE GRADO, TESIS Y ASCENSO:

CONTRIBUIDORES:

APELLIDOS Y NOMBRES	ROL / CÓDIGO CVLAC / E_MAIL				
De Sousa, José Leonardo	ROL	CA	AS	TU	JU
	CVLAC:	V-14.214.493			
	E_MAIL	leonardodesousa@yahoo.com			
	E_MAIL				
Kiriakos, Demetrio	ROL	CA	AS	TU	JU
	CVLAC:	V-5.698.723			
	E_MAIL	kiriakosch@cantv.net			
	E_MAIL				
	ROL	CA	AS	TU	JU
	CVLAC:				
	E_MAIL				
	E_MAIL				
	ROL	CA	AS	TU	JU
	CVLAC:				
	E_MAIL				
	E_MAIL				

FECHA DE DISCUSIÓN Y APROBACIÓN:

2009	03	20
AÑO	MES	DÍA

LENGUAJE. SPA

METADATOS PARA TRABAJOS DE GRADO, TESIS Y ASCENSO:

ARCHIVO (S):

NOMBRE DE ARCHIVO	TIPO MIME
TESIS.DosisLetalCincuentaCrotalos.doc	APPLICATION/MSWORD

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 Investigación en Ciencias de la Salud (OPCIONAL)

TEMPORAL: _____ (OPCIONAL)

TÍTULO O GRADO ASOCIADO CON EL TRABAJO:

Medico Cirujano

NIVEL ASOCIADO CON EL TRABAJO:

Pre-Grado

ÁREA DE ESTUDIO:

Departamento de Medicina

INSTITUCIÓN:

Universidad de Oriente – Núcleo de Anzoátegui

METADATOS PARA TRABAJOS DE GRADO, TESIS Y ASCENSO:

DERECHOS

De acuerdo con el artículo 44 del reglamento de trabajo de grado: “Los trabajos de grado son de exclusiva propiedad de la Universidad de Oriente y sólo podrán ser utilizados a otros fines con el consentimiento del consejo de núcleo respectivo, quien lo participará al Consejo Universitario”.

Fuenmayor R., Ysandra

AUTOR

Salazar G., Marifrancy

AUTOR

Kiriakos, Demetrio.

TUTOR

De Sousa, José L.

JURADO

Ovalles, María.

JURADO

Dra. María Ovalles.

Coordinador de la Comisión de Trabajo de Grado

POR LA SUBCOMISION DE TESIS