



**UNIVERSIDAD DE ORIENTE  
NÚCLEO DE ANZOÁTEGUI  
ESCUELA DE CIENCIAS DE LA SALUD  
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FISIOLÓGICAS  
SECCION DE FARMACOLOGIA**

**CAMBIOS HISTOLOGICOS CAUSADOS POR LA PONZOÑA DE *Rhinella marina* (ANURA, BUFONIDAE) EN TEJIDO RENAL DE RATONES C57BL/6**

**Asesor:**

**Leonardo De Sousa**

**Trabajo de Grado presentado por:**

**Rodríguez Martínez, Claudimar  
Torres Campos Marcela**

**Como requisito parcial para optar al título de Médico-Cirujano**

**Barcelona, octubre de 2013**

## **RESOLUCIÓN**

De acuerdo al artículo 41 del reglamento de trabajos de grado (Vigente a partir del II Semestre 2009, según comunicación CU-034-2009)

“Los Trabajos de grado son exclusiva propiedad de la Universidad de Oriente y solo podrán ser utilizadas a otros fines con el consentimiento del consejo de núcleo respectivo, quien lo participara al Consejo Universitario”



**UNIVERSIDAD DE ORIENTE  
NÚCLEO DE ANZOÁTEGUI  
ESCUELA DE CIENCIAS DE LA SALUD  
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FISIOLÓGICAS  
COMISION TRABAJO DE GRADO**

**DECLARACION JURADA**

El Trabajo de Grado presentado por las estudiantes universitarias **Rodríguez Martínez, Claudimar Josefina** C.I. N° 18.299.674, **Torres Campos, Marcela Chabell** C.I. N° 17.301.908, titulado “**CAMBIOS HISTOLOGICOS CAUSADOS POR LA PONZOÑADE *Rhinella marina* (ANURA, BUFONIDAE) EN TEJIDO RENAL DE RATONES C57BL/6**”, ha sido aprobado por los miembros del Jurado Evaluador, quienes lo han encontrado correcto en su contenido y forma de presentación; asimismo, declaran que los datos presentados son responsabilidad exclusiva de los autores, en fe de lo cual firman:

**Prof. Mercedes Matos Pérez**

**Miembro Principal**

**Prof. Iraida Daboin**

**Miembro Principal**

**Prof. Leonardo De Sousa**

**Miembro Principal Asesor**

**Prof. Rosibel Villegas**

**Coordinadora Comisión de Trabajos de Grado**

**Escuela de Ciencias de la Salud**

**Octubre 2013**

## RESUMEN

### **CAMBIOS HISTOLOGICOS CAUSADOS POR LA PONZOÑA DE *Rhinella marina* (ANURA, BUFONIDAE) EN TEJIDO RENAL DE RATONES C57BL/6**

Rodríguez Martínez, Claudimar Josefina y Torres Campos, Marcela Chabell, Asesor: De Sousa, Leonardo. Laboratorio de Toxinología, Grupo de Investigación en Toxinología Aplicada y Animales Venenosos, Escuela de Ciencias de la Salud, Núcleo de Anzoátegui, Universidad de Oriente.

En cada ratón hembra C57BL/6 (n = 4) se administró, por vía intraperitoneal, una DL<sub>50</sub> de la ponzoña de *Rhinella marina*, equivalente a 14,13 µg.g<sup>-1</sup> de ratón. Luego fueron evaluados durante sesenta minutos. El tiempo de aparición de los signos inducidos por efecto de toxicidad aguda, de la ponzoña de *Rhinella marina*, fue gradual. Los signos inmediatos de toxicidad aguda, fueron contracción abdominal, hipoactividad, piloerección y secreción ocular. Posterior a éstos, como expresión de toxicidad grave, se instaló exoftalmos, taquipnea, sialorrea, incoordinación de la marcha, convulsiones y relajación de esfínteres. El exoftalmos bilateral, como signo de toxicidad grave, se expresó exclusivamente en el grupo de ratones que murieron (10 minutos) cuando se comparó con los vivos. Las convulsiones, en el espectro de toxicidad grave, surgen exclusivamente en este grupo y precede a la muerte. Los ratones sobrevivientes (n = 2) fueron sacrificados para evaluar los cambios histológicos en el tejido renal causados por el efecto tóxico de la ponzoña de *Rhinella marina*. En el tejido renal se observó congestión vascular acentuada, penachos glomerulares de aspecto normal, algunos discretamente retraídos y congestivos, intersticio con fibrosis leve perivascular. Los segmentos tubulares proximales mostraron vacuolización citoplasmática del epitelio, pérdida parcial del

ribete en cepillo y acortamiento del epitelio. En el tejido no se evidenciaron zonas de inflamación o necrosis.

## **AGRADECIMIENTO**

A la universidad de Oriente y Escuela de Ciencias de la Salud, Núcleo Anzoátegui, por ser nuestra segunda casa y brindarnos la oportunidad de formar parte de su gran comunidad.

Al laboratorio de Toxinología y Grupo de Investigación en Toxinología aplicada y Animales Venenosos, Secciones de Fisiología, Bioquímica y Farmacología, Departamento de Ciencias Fisiológicas, Escuela de Ciencias de la Salud, Núcleo Anzoátegui, por permitirnos el desempeño y elaboración de nuestro trabajo de grado.

A nuestro Apreciado Tutor Dr. Leonardo De Sousa por su colaboración, dedicación, motivación y paciencia al transmitir sus amplios conocimientos y experiencias para la realización de esta investigación.

A la Dra Iraida Daboin, por su valiosa contribución en la realización de este trabajo.

A Norwis Gonzalez, Técnico del Laboratorio de Anatomía Patológica del Hospital Universitario “Dr. Luis Razetti” por su cooperación y asesoría.

A Freya Macadan, por su ayuda, enseñanza y apoyo en muchos de los procesos que aquí tuvieron lugar.

A nuestros padres y familiares por todo el apoyo prestado en la realización de nuestro trabajo de investigación

Y a todas aquellas personas que de una u otra forma, colaboraron o participaron en la realización de esta investigación, hacemos extensivo nuestro más sincero agradecimiento.

**Claudimar Josefina Rodríguez Martínez**  
**Marcela Chabell Torres Campos**

## DEDICATORIA

Siempre imagine el día cuando por fin terminara mi tesis de grado y tuviese que agradecer a cada una de las personas que colocaron su granito de arena para que esto fuese posible y primero que nada

Le quiero agradecer a Dios y a la Virgen del Valle gracias por siempre escucharme e iluminarme en cada momento de angustia.

A mis padres Thais y José por estar allí en todo momento, siempre apoyándome en todo lo que necesite durante esta larga carrera y siempre estar allí para levantarme cuando ya sentía que no podía más. Los Amo.

A mis hermanas Adriana y Andreina por soportarme todas mis rabias y mis desvelos y apoyarme cuando más las necesite

A mi esposo Pedro por estar conmigo siempre apoyándome en todo y cuidando de mí en todo momento, dándome fuerzas para seguir adelante. Te Amo príncipe.

A mi tía Ennelia, le doy gracias infinitas a Dios por haberte tenido tanto tiempo a mi lado, se que desde el cielo estas pendiente de mi e iluminándome el camino. Te extraño tía.

A mi amiga Marian, que a pesar de la distancia siempre estuvimos en comunicación.

A mis amigas y compañeras de carrera, Zoraily, Jessica, Lourdes, Solennys, Jiomarlyn, Marianela, Daniela por ser amigas incondicionales en las buenas y en las malas, gracias por todos los momentos de risas que en algunos momentos me hicieron olvidar lo mal que me sentía.

A mi compañera de tesis Marcela Torres, por aguantar todos mis contratiempos, la espera valió la pena!

Y a todas aquellas personas que de una u otra forma colaboraron y estuvieron conmigo, en todos los años de carrera. Mil Gracias

**Claudimar Rodríguez**

## DEDICATORIA

El espacio-tiempo transcurrido hasta este momento en mi vida me ha permitido estar y compartir con personas muy valiosas, me ha dado la posibilidad de conocer a seres estupendos y llenos de valores inmensurables, me ha llenado de vida con una infinidad de buenos recuerdos y sonrisas en mi memoria.

**A Dios**, Por haberme permitido llegar hasta este punto y haberme dado salud para lograr mis objetivos, además de su infinita bondad y amor.

**A mi madre Morelis**, Por haberme apoyado en todo momento, por sus consejos, sus valores, por la motivación constante que me ha permitido ser una persona de bien, por ser el pilar fundamental en todo lo que soy.

**A mi padre Jesús**, Por los ejemplos de perseverancia y constancia que lo caracterizan y que me ha infundado siempre, por el valor mostrado para salir adelante y por su amor.

**A mis tías Aura y Yajaira**, segundas madres para mi, por todo el cariño y apoyo que me han dado siempre en la vida y en mi carrera.

**A Angel Yan**, No sabes todo lo que me has dado, convirtiendo mi vida en una luz que no deja ver oscuridad en ningún rincón, por enseñarme que no hay límites, que lo que me proponga lo puedo lograr y que solo depende de mi.

**A mi tutor, Dr. Leonardo de Sousa**, por su apoyo, por su rectitud en su profesión como docente, por su visión crítica de muchos aspectos cotidianos de la vida que ayudan a formarte como persona y profesional.

Son muchas las personas que han formado parte de mi vida y a las que me encantaría agradecerles su amistad, consejos, apoyo, ánimo y compañía en los momentos más difíciles de mi camino. Algunas están aquí conmigo y otras en mis recuerdos, sin importar en donde estén quiero darles las gracias por formar parte de mí, por todo lo que me han brindado y por todas sus bendiciones.

**Marcela Torres**



## INDICE

RESOLUCIÓN .....	i
DECLARACION JURADA .....	ii
RESUMEN.....	iii
AGRADECIMIENTO .....	v
DEDICATORIA .....	vi
DEDICATORIA .....	vii
INDICE .....	viii
INTRODUCCIÓN .....	x
CAPÍTULO I.....	11
EL PROBLEMA .....	11
Objetivos .....	12
General .....	12
Específicos .....	12
CAPITULO II .....	13
MARCO TEÓRICO.....	13
CAPITULO III.....	17
MARCO METODOLOGICO.....	17
Fuente de la ponzoña.....	17
Extracción y purificación parcial de la ponzoña .....	17
Designación de una DL <sub>50</sub> como dosis controlada de la ponzoña de <i>Rhinella marina</i> .....	18
Evaluación de los signos de toxicidad aguda experimental y su curso temporal de aparición.....	19
Descripción de los cambios histológicos agudos en tejido renal de ratones C57BL/6, causados por la inyección intraperitoneal de la ponzoña de <i>Rhinella marina</i> .....	20

CAPITULO IV .....	21
ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS.....	21
Resultados .....	21
Curso temporal de toxicidad aguda experimental.....	21
Hallazgos histológicos normales.....	25
Descripción histológica del tejido renal posterior a la inyección de una DL <sub>50</sub> de la ponzoña de <i>Rhinella marina</i> en ratones de la cepa C57/BL6 .....	27
Discusión.....	32
Comparación de la actividad de la ponzoña de <i>Rhinella marina</i> sobre tejido renal con los venenos de otros animales vertebrados e invertebrados .....	32
CAPITULO V .....	43
CONCLUSIONES .....	43
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	44
METADATOS PARA TRABAJOS DE GRADO, TESIS Y ASCENSO:.....	52

## INTRODUCCIÓN

En este trabajo se evaluaron los cambios histológicos observados en tejido renal de ratones C57BL/6 inducidos por efecto tóxico agudo experimental causado por la ponzoña de *Rhinella marina* (Anura, Bufonidae). Para tal fin, se administró en ratones hembra C57BL/6, por vía intraperitoneal y para 60 minutos de experimentación, una DL<sub>50</sub>, como dosis controlada de la ponzoña de *Rhinella marina* [obtenida por el método secuencial de Dixon y Mood(1948) modificado (Sevcik, 1987)],

Con base en lo expuesto anteriormente, este trabajo se elaboró de acuerdo con los siguientes capítulos:

El capítulo I, denominado el problema, en el cual se plantea la pregunta de investigación, a raíz de ello surgen las interrogantes que dan paso a la formulación del objetivo general y los objetivos específicos. También contempla la justificación e importancia y los alcances de la investigación. Seguidamente, en el capítulo II se expone el marco teórico, en el cual se presenta los antecedentes de la investigación relacionados con estudios previos que tienen relación con el problema planteado. Además, comprende las bases teóricas donde se citan distintos autores sobre los conceptos y puntos relevantes del tema de estudio y los objetivos planteados. El capítulo III, está dirigido a describir e interpretar la naturaleza de la investigación, estableciendo el tipo, modelo y diseño de la misma. Luego, el capítulo IV referido al análisis de la investigación, consiste en interpretar cada uno de los objetivos para obtener respuestas a las interrogantes surgidas en el planteamiento del problema. En el capítulo V, se desarrollan las conclusiones obtenidas.

# **CAPÍTULO I**

## **EL PROBLEMA**

El desarrollo de este trabajo se justificó con base en la inexistencia de investigaciones experimentales previas sobre la evaluación de alteraciones histológicas agudas desarrolladas en tejido renal de ratones C57BL/6, como consecuencia del efecto tóxico agudo experimental con la ponzoña de *Rhinella marina*. Por consiguiente, fue de interés para el Laboratorio de Toxinología del Grupo de Investigación en Toxinología Aplicada y Animales Venenosos de la Escuela de Ciencias de la Salud, Núcleo de Anzoátegui, Universidad de Oriente, la realización de esta investigación, ya que constituye un avance en el área histopatológica en lo que se refiere a la actividad biológica de la ponzoña obtenida de especies venezolanas ubicadas taxonómicamente dentro de la familia Bufonidae.

## Objetivos

### General

Evaluar los cambios histológicos agudos en tejido renal de ratones hembra, de la cepa C57BL/6, causados como respuesta de toxicidad aguda experimental a una dosis controlada de la ponzoña *Rhinella marina*, inyectada por vía intraperitoneal.

### Específicos

1. Designar una  $DL_{50}$ , como dosis controlada, de la ponzoña de *Rhinella marina* para la cepa de ratón C57BL/6.
2. Evaluar en la cepa de ratón C57BL/6 los signos clínicos de toxicidad aguda experimental y su curso temporal de aparición, durante sesenta minutos, inducidos como efecto tóxico de la inyección intraperitoneal de una dosis controlada de la ponzoña *Rhinella marina*.
3. Determinar los cambios histológicos agudos como efecto de toxicidad aguda experimental de la ponzoña *Rhinella marina* en tejido renal de ratones C57BL/6.
4. Comparar en la cepa C57BL/6 los cambios histológicos observados en tejido renal causados por la ponzoña *Rhinella marina* con el veneno de otros grupos taxonómicos.

## CAPITULO II

### MARCO TEÓRICO

Los sapos pertenecen al phylum Chordata, clase Amphibia, orden Anura, familia Bufonidae; dentro de esta familia se encuentra el género *Rhinella*, que cuenta con 77 especies (ITIS, 2011). Dos de ellas se distribuyen ampliamente en América: *Rhinella marina* Linnaeus, 1758 y *Rhinella granulosa* Spix, 1824 (Basir y Gil, 2012).

El nombre común de "sapo marino", y el nombre científico *Bufo marinus* (ahora *Rhinella marina*), sugieren un enlace con la vida marina; sin embargo no hay tal enlace. Los sapos de caña adultos son completamente terrestres, aventurando en agua dulce solo para reproducirse, y los renacuajos se les encuentran solamente tolerando concentraciones salinas equivalentes al 15% del agua de mar. Ambos, huevos y renacuajos son tóxicos para muchos animales. Esta protección tóxica es perdida por un período después de la metamorfosis hasta el desarrollo de las glándulas paratoideas. Los sapos de caña no habitan en prados abiertos, generalmente evitando áreas forestales; esto inhibe su extensión en muchas de las regiones en las cuales fueron introducidos (Lowe, 2000).

También conocido como sapo Neotropical gigante, es un anuro nocturno y muy prolífico. Su éxito reproductor es en parte debido al alimento oportuno. Tienen una dieta, rara entre los Anuros, de materia viva y muerta. Los adultos tienen una longitud promedio de 10 a 15 cm. El espécimen más grande registrado pesó 2,65 kg y alcanzó 38 cm desde el hocico hasta la cloaca (Zug, 1979; Krakauer, 1968). Su tiempo de supervivencia en la naturaleza es desconocida, pero probablemente no más de 5 años. Los animales en cautividad se estima que viven de 10 a 40 años (Lowe, 2000).

Rhinella marina tiene un color oliva, piel marrón dorsal con muchas verrugas que terminan en oscuras tapas marrones. La piel ventral tiende a ser de un color amarillo blanquecino con manchas marrones oscuras o moteadas y es granular. Posee enormes glándulas paratoideas que se extienden desde el lado anterior del timpano a la mitad de la espalda. Una cresta osea alta se reúne en el hocico entre las fosas nasales, al igual que otras especies nocturnas, tiene las pupilas horizontales (Cogger, 1993).

Las secreciones de las glándulas paratoides se producen cuando el sapo es provocado o cuando se aplica presión localizada en el caso de un depredador agarrando el sapo en la boca. Las secreciones tóxicas se sabe que causan enfermedad y muerte en los animales domésticos y salvajes que entran en contacto con los sapos, tales como perros, gatos, serpientes y lagartos. La toxina causa dolor extremo si se frota en los ojos (Cogger 1993).

En sapos y salamandras, existen glándulas parótidas y pequeñas nudosidades en la piel dorsal, encargadas de almacenar y sintetizar las toxinas. En las ranas de la familia Dendrobatidae, son las glándulas serosas distribuidas principalmente en la región dorsal las responsables de la producción y almacenamiento de la ponzoña. Los sapos y las ranas por carecer de aparato de inyección de las toxinas, se consideran animales ponzoñosos pasivos. En los sapos, la secreción cutánea tóxica es producida por un par de glándulas, en posición post orbital, visibles a simple vista, de forma alargada o triangular, conocidas como parótidas (Basir y Gil, 2012).

Los accidentes en humanos son muy raros; sin embargo, ocurren comúnmente en perros cuando al morder repetidamente al sapo, ingieren con la saliva las secreciones tóxicas. La cantidad de 0,80 gramos es suficiente para matar a un perro de 7 a 14 kg. Los efectos en los perros suelen ser irritación de la mucosa oral, sialorrea y vómito o más grave, como alteración cardíaca que semeja una intoxicación

digitállica y lo puede llevar a la muerte. Muchas ranas identifican una presa por sus movimientos; los sapos de caña pueden además localizar comida usando su sentido del olfato. Ellos no se limitan por consiguiente a cazar presas y pueden comer plantas, carroña, comida de perros y desechos, aparte de la alimentación normal de las ranas, basada en vertebrados e invertebrados pequeños (Botero, 2003).

Según Botero (2003), cuando los sapos de caña se sienten amenazados, secretan un fluido blanco alcaloide, conocido como bufotoxina, que contiene componentes que resultan tóxicos para muchos animales. Incluso, se han reportado muertes de seres humanos, intoxicados al tratar de capturarlos y consumirlos. Por lo que se considera importante conocer la trascendencia de la toxicidad de esta especie aplicando el estudio en ratones de la cepa C57BL/6, para con ello corroborar las teorías supuestas acerca de este anfibio y los posibles daños que el mismo pueda causar en la especie humana.

De lo anteriormente expuesto surgen las siguientes interrogantes:

- ¿Cómo actúa la  $DL_{50}$ , como dosis controlada, de la ponzoña *Rhinella marina* en el tejido renal de ratones C57BL/6?

¿Cuáles son los cambios histológicos agudos como efecto de toxicidad aguda experimental de la ponzoña *Rhinella marina* en tejido renal de ratones C57BL/6?

- ¿Cuáles son los cambios histológicos observados en tejido renal causados por la ponzoña *Rhinella marina* en comparación con el daño causado por el veneno de otros grupos taxonómicos, en la cepa C57BL/6?

El desarrollo de este estudio se basó principalmente en precisar los cambios histopatológicos que se producen en el tejido renal de ratones de la cepa C57BL/6



como resultado del efecto tóxico agudo experimental con la ponzoña de *Rhinella marina*, haciendo posible avances en el área histopatológica en lo que se refiere a la actividad biológica de la ponzoña obtenida de especies venezolanas ubicadas taxonómicamente dentro de la familia Bufonidae.

## **CAPITULO III**

### **MARCO METODOLOGICO**

#### **Fuente de la ponzoña**

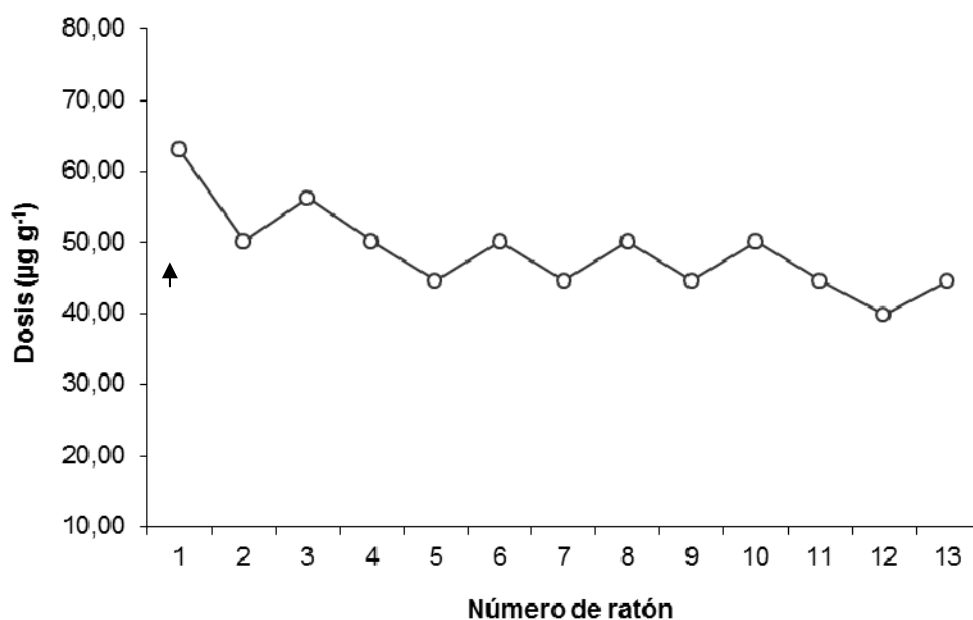
Para la ejecución de la presente investigación se capturó la especie *Rhinella marina* (Anura, Bufonidae), en varias localidades de la región norte del estado Anzoátegui (El Rincón, Puerto Píritu, Puerto La Cruz, Lechería, Aragua de Barcelona, Clarines). Posteriormente, fueron trasladados al Laboratorio de Toxinología del Grupo de Investigación en Toxinología Aplicada y Animales Venenosos, Escuela de Ciencias de la Salud, Núcleo de Anzoátegui, Universidad de Oriente, donde los ejemplares se identificaron mediante observación detallada de sus características morfológicas. Los sapos se mantuvieron vivos para la extracción de su ponzoña.

#### **Extracción y purificación parcial de la ponzoña**

Luego de 24 horas como período de adaptación a las condiciones de laboratorio, los sapos fueron ordeñados por compresión manual de las glándulas parótidas (finalizada la extracción los anfibios fueron restituidos en sus lugares de captura). La ponzoña eyectada de los ejemplares, fue recogida en cápsulas de Petri. Luego deshidratada en frío (a -20°C) y mantenida en refrigeración. Al momento de su uso, fue reconstituida con 1 mL de agua bidestilada, con el fin de tener una solución madre con concentración conocida (peso/volumen)

### Designación de una $DL_{50}$ como dosis controlada de la ponzoña de *Rhinella marina*

La  $DL_{50}$  de la ponzoña de *Rhinella marina*, para una hora de experimentación, fue determinada (en trabajo previo por Basir y Gil, 2012) por el método secuencial de Dixon y Mood (1948) modificado por Sevcik (1987) en ratones hembra C57BL/6 (Fig.1). Para detalles del método consultar en De Sousa y colaboradores (2009, 2010).



**Figura 1. Determinación de la dosis letal cincuenta ( $DL_{50}$ ) de la ponzoña de *Rhinella marina* (Anura, Bufonidae) por vip en ratones hembra C57BL/6 (Basir y Gil, 2012).**

La flecha indica 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):  $DL_{50}$ , vip, 60 minutos = 47,39 (44,66 – 50,11)  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  de ratón. Índice de Variabilidad = 10,9%.

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

Cuatro ratones hembra de la cepa C57BL/6, adquiridos en el Bioterio del Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas (IVIC) y disponibles en el Área de Toxinología del Grupo de Investigación en Toxinología Aplicada y Animales Venenosos, hidratados y alimentados *ad libitum*, fueron inyectados por vía intraperitoneal con una  $DL_{50}$ , como dosis controlada, de la ponzoña de *Rhinella marina*. En tal sentido, a cada uno de los ratones C57BL/6 se les administró una dosis de ponzoña de 47,39 (44,66-50,11)  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  de ratón (Basir y Gil, 2012).

Los signos clínicos expresados como efecto de toxicidad aguda experimental inducida por la inyección intraperitoneal de la dosis controlada de la ponzoña de *Rhinella marina*, fueron observados meticulosamente durante los 60 minutos de experimentación y tabulados cronológicamente; adicionalmente se registró el resultado final de sobrevivencia o muerte. Se utilizaron animales testigo a los cuales se les administró solución fisiológica en volúmenes similares a los del grupo experimental (De Sousa y col., 2009, 2010; De Sousa, 2011).

**Descripción de los cambios histológicos agudos en tejido renal de ratones C57BL/6, causados por la inyección intraperitoneal de la ponzoña de *Rhinella marina***

Una vez cumplido el tiempo de sesenta minutos de exposición al tratamiento, los animales que sobrevivieron fueron elegidos para evaluar los cambios histológicos agudos causados por la ponzoña de *Rhinella marina*; para ello, fueron sacrificados mediante dislocación cervical. Seguidamente, se practicó incisión en la línea medio esternal y abdominal y se extrajeron las vísceras en bloque. Luego se fijaron mediante inmersión en formalina al 10% (v/v) durante tres días. Similarmente se procedió con un ratón control. Al finalizar el periodo de fijación se procedió a la separación de los riñones (envenenados y controles) para colocarlos individualmente en cajetillas de inclusión para su posterior tratamiento.

Las piezas se lavaron con agua corriente, por quince minutos, para eliminar la formalina. Posteriormente se deshidrataron con etanol, con concentraciones crecientes (v/v), iniciando 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, seguido por dos períodos en xilol de 15 minutos cada uno. Finalmente fueron incluidos en bloques de parafina para realizar los cortes, con microtomo, con un espesor de 3 micras. Los cortes fueron colocados en portaobjetos rotulados, previamente tratados con albúmina de Mayer. Posteriormente se realizó su secado, en estufa, entre 50 y 55°C durante 20 a 30 minutos, y se dejaron a temperatura ambiente. Una vez enfriados, se procedió a fijar y colorear los cortes con hematoxilina-eosina (H-E), ácido peryódico de Shiff (PAS) y ácido tricrómico. Finalmente observados en microscopio de luz.

## CAPITULO IV

### ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS

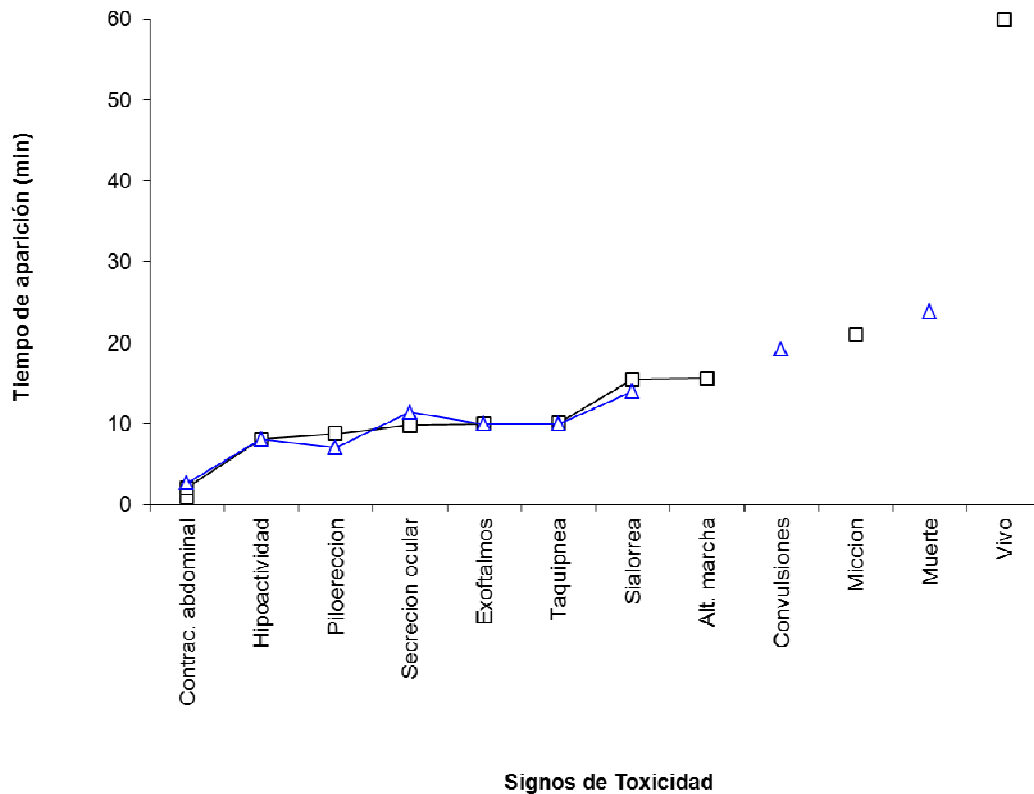
#### Resultados

##### Curso temporal de toxicidad aguda experimental

Luego de la exposición, durante sesenta minutos, al tratamiento conformado por una DL<sub>50</sub>, como dosis controlada de la ponzoña de *Rhinella marina*, se obtuvo una frecuencia de 50,0% (n = 2) de animales sobrevivientes. En la Figura 2 se presenta el curso temporal de aparición de los signos de toxicidad aguda experimental inducida por la ponzoña de *Rhinella marina* en ratones, hembra, cepa C57BL/6. La toxicidad fue gradual, los signos inmediatos de toxicidad aguda fueron contracción abdominal, hipoactividad piloerección y secreción ocular. Posterior a éstos, como expresión de toxicidad grave, se instaló, exoftalmos, taquipnea, sialorrea, incoordinación de la marcha y convulsiones. El exoftalmos bilateral, como signo de toxicidad grave, se expresó exclusivamente en el grupo de ratones que murieron (10 minutos) cuando se comparó con los vivos; los cuales, no presentaron este signo (2/2 muertos, 0/2 vivos). Las convulsiones (de tipo tónico-clónicas), en el espectro de toxicidad grave surgen exclusivamente en este grupo y precede a la muerte (2/2 muertos y 0/2 vivos).

En la Tabla 1, se presenta la frecuencia de los signos clínicos inducidos por efecto de toxicidad aguda experimental de la ponzoña de *Rhinella marina* en ratones hembra C57BL/6. Se observaron 12 signos clínicos de toxicidad. En el 100,0% se evidenció secreción ocular, piloerección, sialorrea y taquipnea. Luego contracción abdominal e hipoactividad (75,0%). En el 50,0% de los casos, exoftalmos, convulsiones y bradipnea/apnea. Con menor frecuencia, hiperextensión del tren posterior, micción, incoordinación de la marcha (25,0%).

La Figura 3, muestra un ratón C57BL/6 con signos de toxicidad aguda experimental.



**Figura 2. Comparación del curso temporal de toxicidad aguda experimental, entre ratones C57BL/6 vivos y muertos, inyectados con la ponzoña de *Rhinella marina* (Anura, Bufonidae).**

Línea/triángulo azules: ratones C57BL/6 muertos por el efecto tóxico de la ponzoña. Línea/cuadrados negros: ratones C57BL/6 sobrevivientes al efecto tóxico de la ponzoña.

**Tabla 1. Frecuencia de manifestaciones clínicas inducidas por toxicidad aguda de la ponzoña de *Rhinella marina* en ratones hembra C57BL/6.**

Signo de toxicidad	n	%
Secreción ocular	4/4	100,0
Piloerección	4/4	100,0
Sialorrea	4/4	100,0
Taquipnea	4/4	100,0
Contracción abdominal	3/4	75,0
Hipoactividad	3/4	75,0
Exoftalmos	2/4	50,0
Convulsiones	2/4	50,0
Bradipnea/apnea	2/4	50,0
Hiperextensión tren posterior	1/4	25,0
Micción	1/4	25,0
Incoordinación de la marcha	1/4	25,0

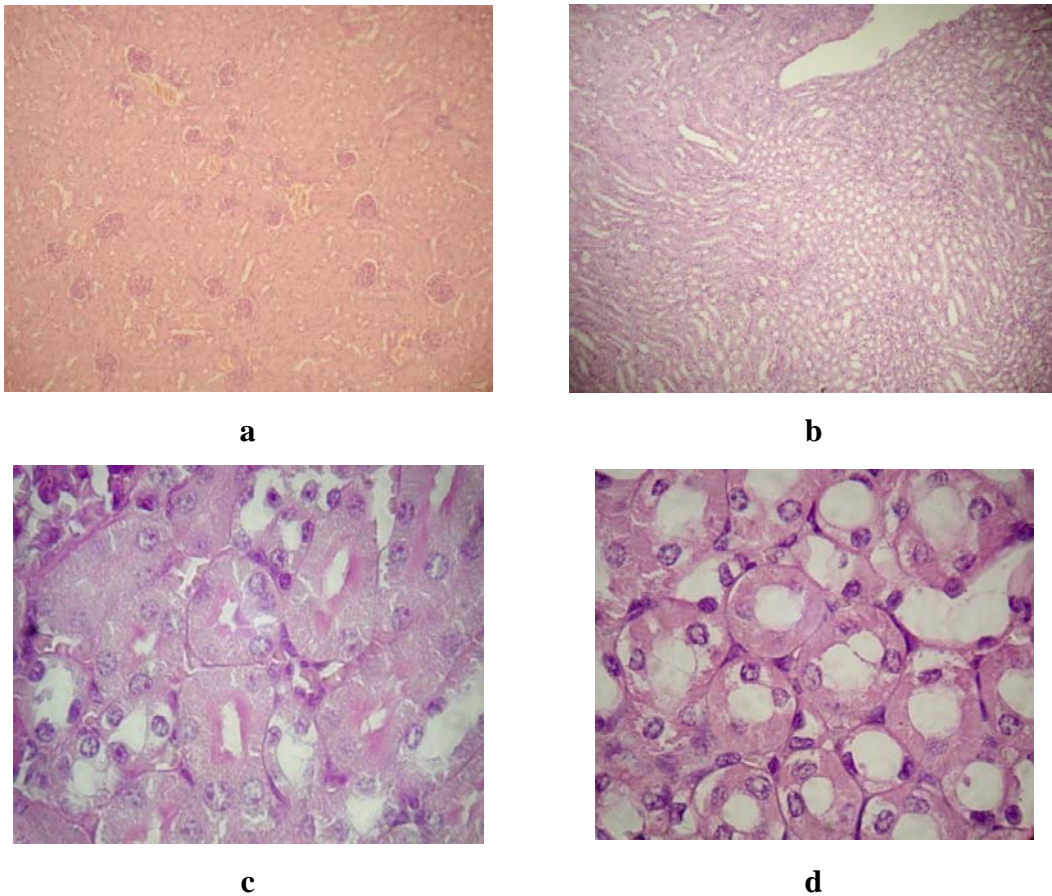


**a****b****c****d****e****f**

**Figura 3. Comparación de un ratón C57BL/6 control con uno sobreviviente inyectado, por vip, con la ponzoña de *Rhinella marina* (Anura, Bufonidae) mostrando signos de toxicidad aguda. (a) Ratón testigo (sano). (b), (c) y (d) Postura de hipoactividad mostrando debilidad muscular del tren posterior. En (c), (d) y (f) Facies tóxica., piloerección**

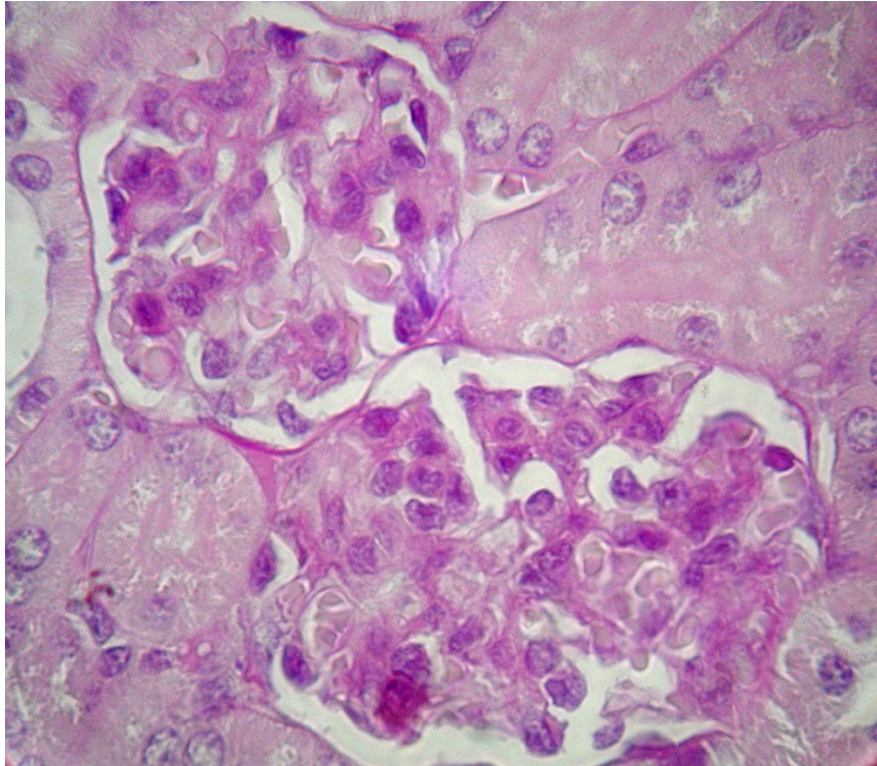
### Hallazgos histológicos normales

Las figuras 4 (a hasta d) y 5, muestran imágenes de tejido renal normal, de ratones C57BL/6, caracterizados por la integridad de los corpúsculos renales, túbulos, vasos sanguíneos y tejido intersticial.



**Figura 4. Tejido renal correspondiente a un ratón control C57BL/6. (a). Corteza renal, H-E, 10x. (b). Médula renal, H-E, 10x. (c). Nótese túbulos renales mostrando la integridad de su pared, obsérvese las características núcleo-citoplasma y la presencia del ribete en cepillo de los túbulos contorneados proximales; todos descansando sobre una membrana basal continua PAS positiva, 40x. (d). Sección de médula renal, mostrando la integridad de las asas de Henle. H-E, 40x.**



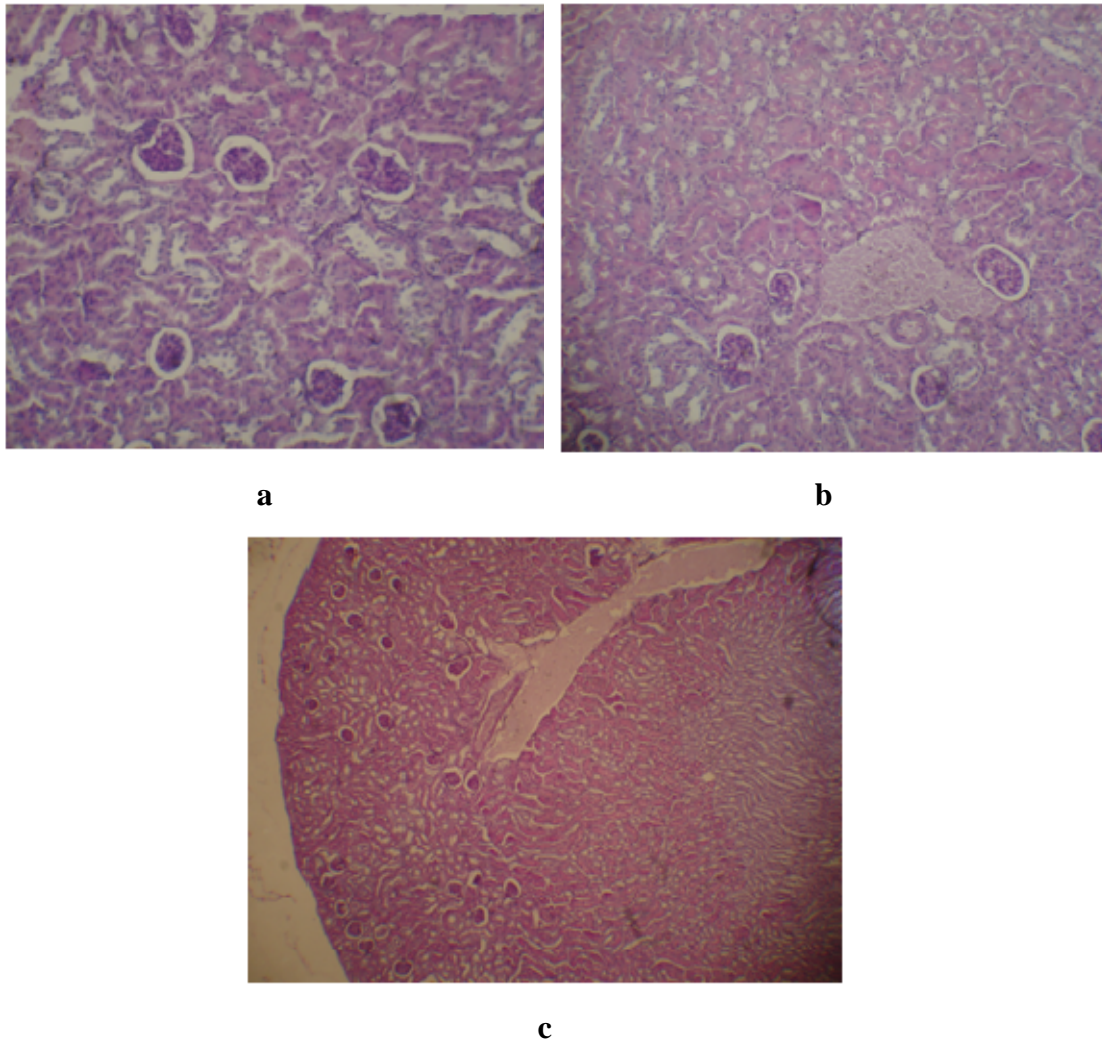


**Figura 5. Sección de corteza renal correspondiente a ratón control C57BL/6.**

**Detállese las características normales de los corpúsculos y túbulos renales. Obsérvese la nitidez de las hojas parietal y visceral de la cápsula de Bowman y la membrana basal, claramente PAS positiva. Coloracion PAS 100x.**

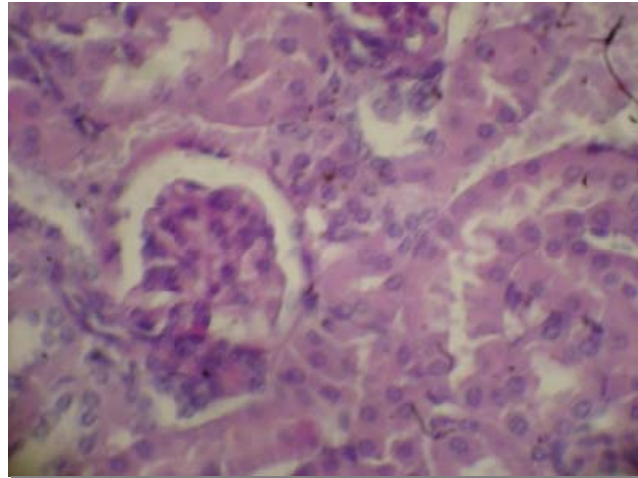
**Descripción histológica del tejido renal posterior a la inyección de una DL<sub>50</sub> de la ponzoña de *Rhinella marina* en ratones de la cepa C57/BL6**

En el tejido renal de los ratones C57/BL6, inyectados con una DL50 de la ponzoña de *Rhinella marina*, se observaron penachos glomerulares de aspecto normal, algunos discretamente retraídos y congestivos, intersticio con fibrosis leve perivascular. Los segmentos tubulares proximales mostraron vacuolización citoplasmática del epitelio, pérdida parcial del ribete en cepillo y acortamiento del epitelio. Algunas luces tubulares se observaron ocupadas por fragmentos de células epiteliales desprendidas. Las ramas de arterias interlobulillares no muestran engrosamiento hiperplásico en sus paredes. Se evidenció congestión vascular acentuada. No se observaron zonas de inflamación ni necrosis.

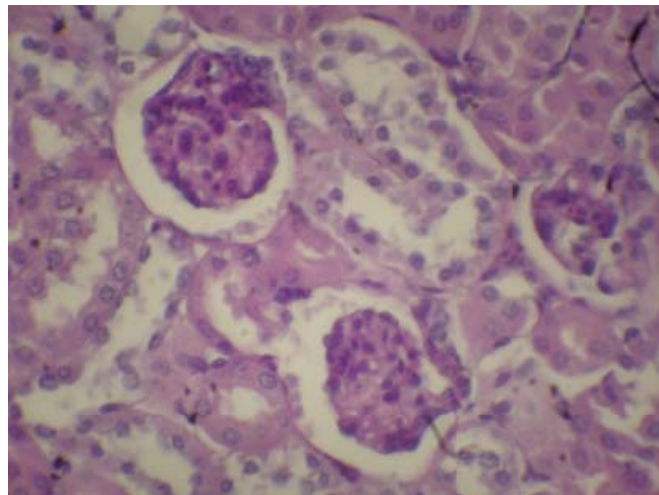


**Figura 6. Tejido renal de ratón C57BL/6 inyectado con una  $DL_{50}$  de la ponzoña de *Rhinella marina*.**

**En (a) y (b) se observa dilatación de la capsula de Bowman, vasos sanguíneos con congestión vascular acentuada. (c) vista panorámica de la corteza y medula renal. PAS, 250x.**



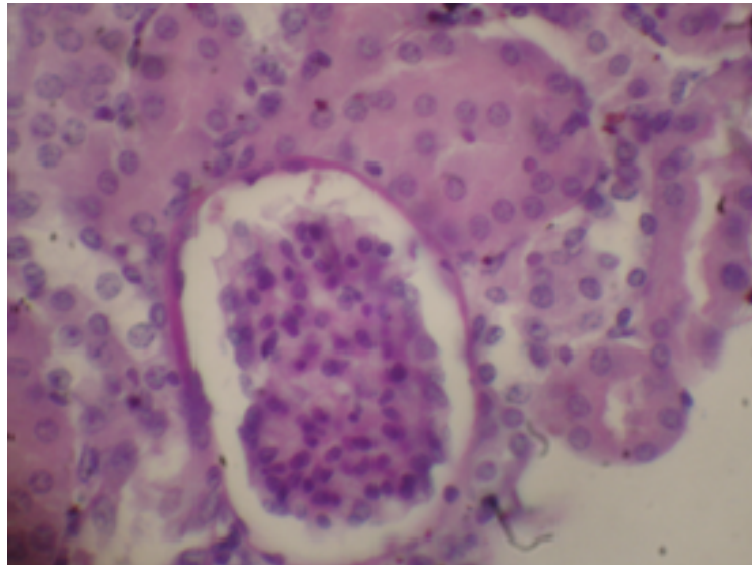
**a**



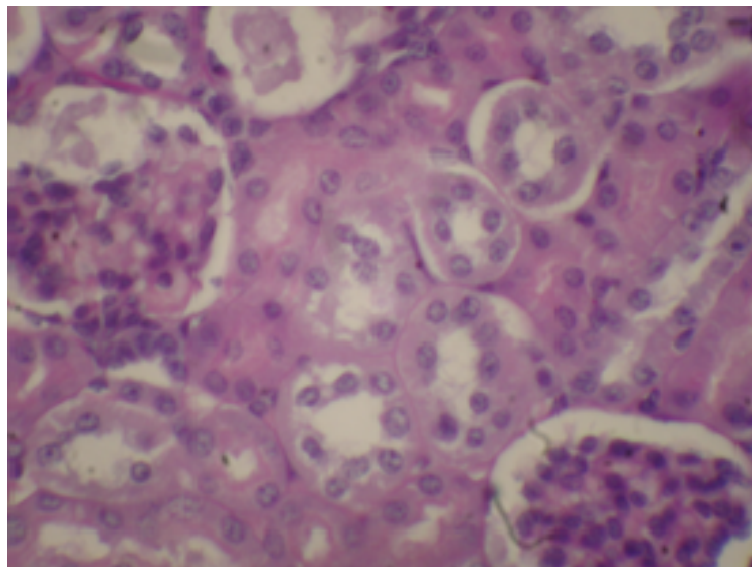
**b**

**Figura 7. Tejido renal de ratón C57BL/6 inyectado con una  $DL_{50}$  de la ponzoña de *Rhinella marina*.**

**En (a) y (b) se observa dilatación de la capsula de Bowman, los segmentos tubulares proximales muestran vacuolización del citoplasmática del epitelio, pérdida parcial del ribete en cepillo y acortamiento del epitelio. PAS, 250x.**



a

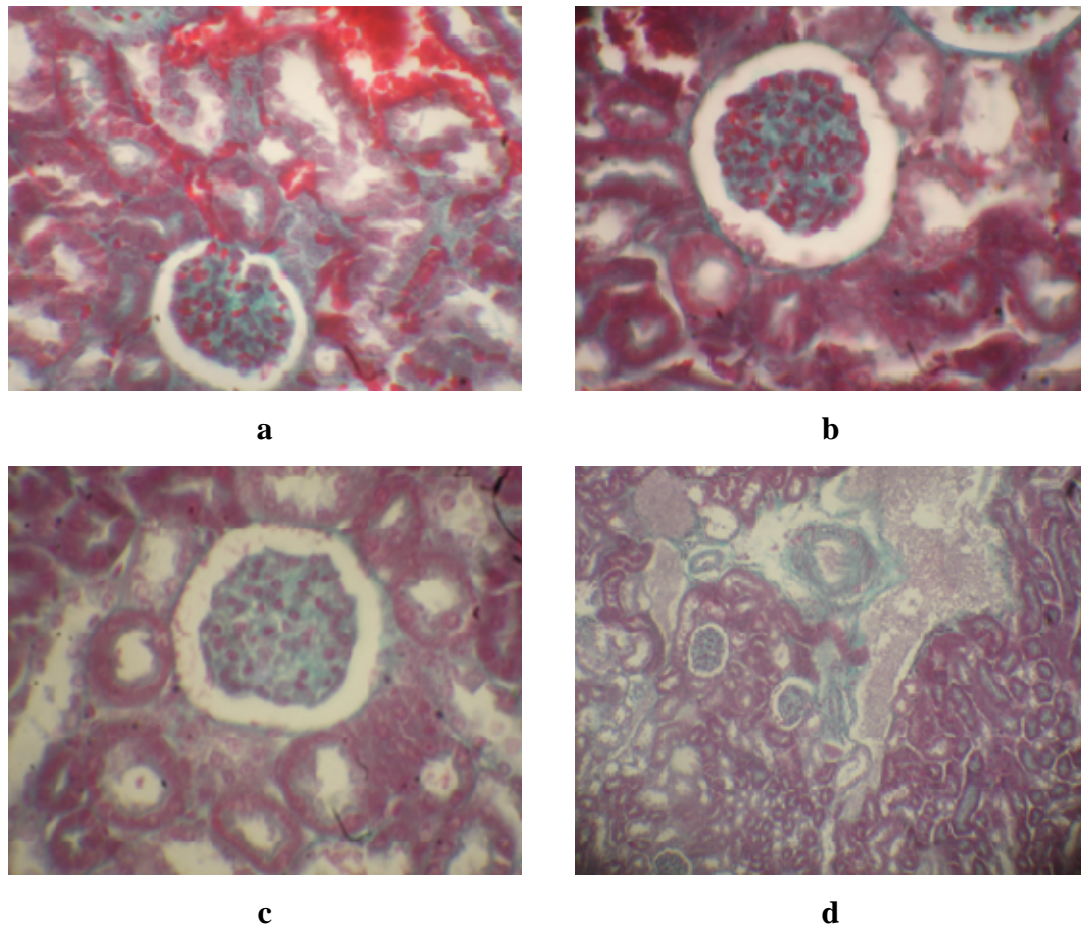


b

**Figura 8. Tejido renal de ratón C57BL/6 inyectado con una  $DL_{50}$  de la ponzoña de *Rhinella marina*.**

**Obsérvese en (a) y (b) la retracción glomerular y pérdida parcial del ribete en cepillo del segmento tubular proximal. H-E, 10x**





**Figura 9. Tejido renal de ratón C57BL/6 inyectado con una  $DL_{50}$  de la ponzoña de *Rhinella marina*.**

**En (a), (b) y (c) se observa retracción del glomérulo renal, dilatación de la capsula de Bowman y zonas isquémicas leves. En (d) congestión vascular acentuada. Tricrómico de Masson, X400.**



## Discusión

### **Comparación de la actividad de la ponzoña de *Rhinella marina* sobre tejido renal con los venenos de otros animales vertebrados e invertebrados**

En este estudio los ratones C57BL/6 inyectados con una DL<sub>50</sub> de la ponzoña de *Rhinella marina* mostraron diversos cambios histopatológicos en el parénquima renal en comparación con los controles. Las alteraciones fueron más evidentes en algunos de los componentes celulares y en la arquitectura general del tejido.

En el Laboratorio de Toxinología del Grupo de Investigación en Toxinología Aplicada y Animales Venenosos de la Escuela de Ciencias de la Salud, se han estudiado los cambios histológicos a nivel renal en ratones de la cepa C57BL/6 causados por venenos de origen animal; principalmente con el veneno de invertebrados como los escorpiones del género *Tityus* (Salomón, 2009; Martínez y Martínez, 2012; Hurtado y col., 2012) o de vertebrados como el pez sapo cano *Thallasophryne maculosa* (Pereira, 2013)

Salomón (2009), evaluando los efectos tóxicos de una DL<sub>50</sub> del veneno del escorpión *Tityus nororientalis* en ratones C57BL/6 observó pérdida de la citoarquitectura tanto en la corteza como en la médula con afectación de los tres elementos (Figuras 10 y 11): (1) en los glomérulos los capilares se observaron congestionados, (2) en los túbulos contorneados (proximales y distales) y en los colectores, se evidenció desprendimiento de la pared con signos de necrosis y (3) degeneración de los vasos venosos y arteriales; especialmente con la presencia de material hialino en el área subyacente al endotelio arterial. Adicionalmente, demostró que, aun cuando los daños microscópicos encontrados en el tejido renal de las cepas estudiadas fueron similares; en apariencia, en las cepas homocigóticas (BALBc y C57BL/6) y, particularmente, en la C57BL/6, la necrosis celular fue más acentuada.

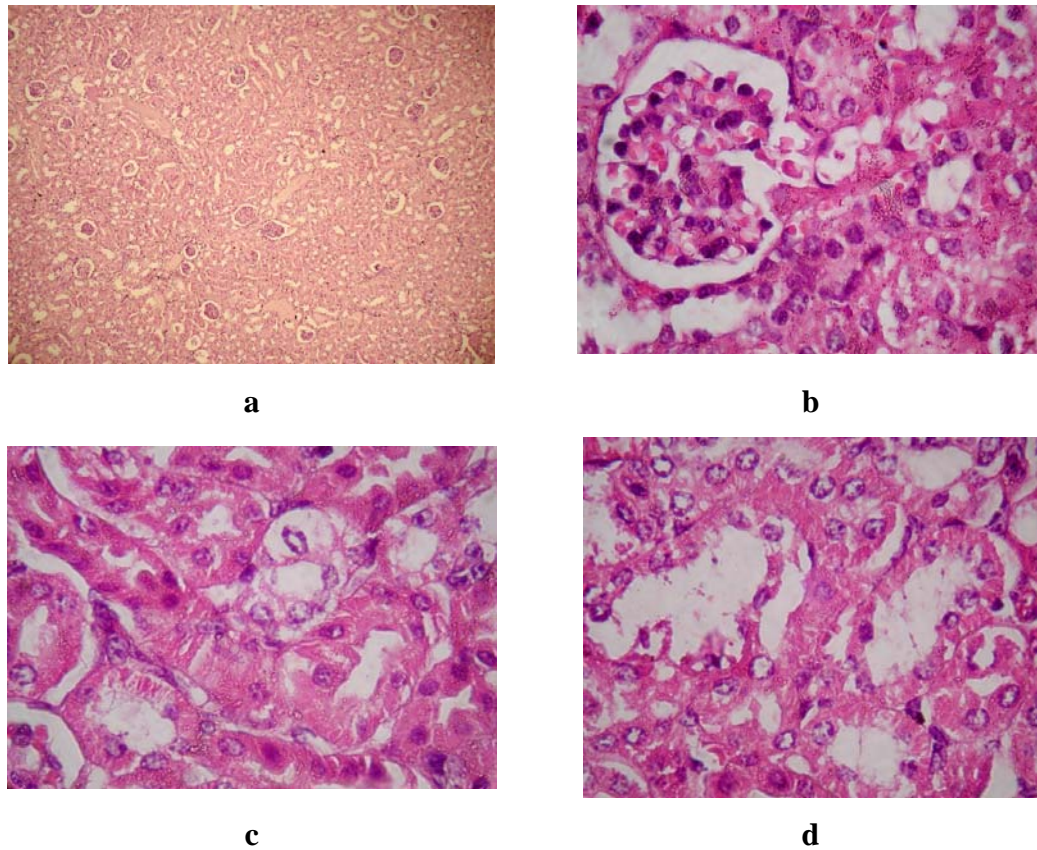
Por su parte, Martínez y Martínez (2012), con una  $DL_{50}$  del veneno de *Tityus discrepans*, en ratones C57BL/6, observaron alteraciones histológicas del parénquima renal (Figura 12). Cambios degenerativos generalizados, tanto en corteza como médula renal. Los corpúsculos renales presentaron capilares dilatados con material fibroso en la capsula de Bowman; la cual observaron aumentada de tamaño con engrosamiento de la lamina parietal. Los túbulos distales mostraron algunos cambios degenerativos. Los contorneados proximales estuvieron poco afectados, conservando su ribete en cepillo. No evidenciaron respuesta inflamatoria ni necrosis del tejido.

Hurtado y colaboradores (2012) encontraron en el tejido renal de ratones C57/BL6 inyectados con una  $DL_{50}$  de veneno de *Tityus zulianus* (Figura 13 y 14), observaron glomeruloesclerosis segmentaria y focal, congestión glomerular acentuada con cambios isquémicos tubulointersticiales leves, dilatación y ectasia vascular acentuada, fibrosis intersticial leve y difusa corticomedular con atrofia tubular. En el tejido renal no se observó inflamación ni necrosis

Los resultados hallados por Salomón (2009), Martínez y Martínez (2012) y Hustado y colaboradores (2012) con los venenos de escorpiones confirmarían los hallazgos de Borges y colaboradores (2004a), quienes demostraron que el veneno de *Tityus zulianus* posee mayor poder pancreatotóxico que el de *Tityus discrepans*; sugiriendo mecanismos especie-específicos relacionados con la especie. En este caso, se establecería diferencias en toxicidad histológica entre los venenos de *Tityus nororientalis*, *Tityus discrepans* y *Tityus zulianus* tal mecanismo especie-específico. Los resultados observados por Salomón (2009) indicarían que el tejido renal de los ratones C57/BL6 inyectados con una  $DL_{50}$  de veneno de *Tityus nororientalis*, mostró mayor afectación degenerativa que los encontrados por Martínez y Martínez (2012) con el veneno de *Tityus discrepans*. En la tabla 2 se presenta la comparación de los cambios histológicos agudos observados en riñones de ratones C57BL/6 tratados con

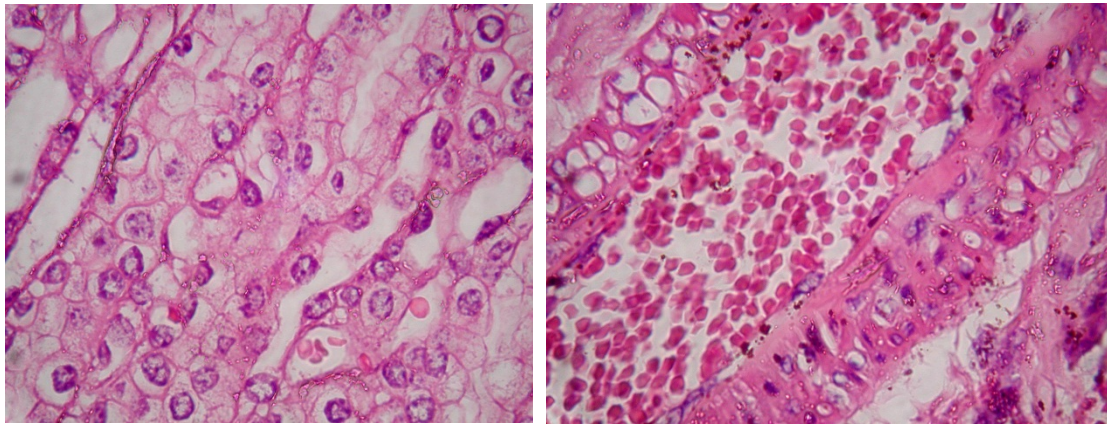
una  $DL_{50}$  con el veneno de *Tityus nororientalis* (Salomon, 2009), *Tityus discrepans* (Martínez y Martínez, 2012) y *Tityus zulianus* (Hurtado y col., 2012) con los de *Rhinella marina*. Al respecto, las alteraciones histopatológicas observadas fueron similares aunque más severas las causadas con los venenos de *Tityus nororientalis* y el de *Tityus zulianus*.

Pereira (2013) demostró cambios histológicos en el tejido renal de los ratones C57/BL6 inyectados con una  $DL_{50}$  de veneno del pez marino *Thalassophryne maculosa* (Figura 15 y 16). Observó en parénquima cortical renal presencia de glomérulos con cambios degenerativos y necrosis (colapso de los capilares glomerulares con necrosis fibrinoide) con áreas hemorrágicas (área renal de transición cortico-medular con presencia de hemorragia en el intersticio). Arteriolas glomerulares congestivas con y trombosis vascular. Degeneración glucogénica de las células de los túbulos renales con presencia de material eosinofílico amorfo en la luz de los túbulos renales.



**Figura 10. Tejido renal de ratón C57BL/6 inyectado con una  $DL_{50}$  del veneno de *Tityus nororientalis* (Salomón, 2009).**

**(a). Dilatación glomerular. H-E, 10x. (b). Sección de corteza, se observa la congestión de los capilares glomerulares con abundante celularidad. En los túbulos contorneados se observa la presencia de “gránulos rojizos” en el citoplasma celular. H-E, 100x. (c). Sección de corteza renal. Los túbulos contorneados proximales y distales están caracterizados por pérdida de la arquitectura normal, la mayoría de las células muestran cambios degenerativos severos. H-E, 40x. (d). Imagen aumentada de la figura 10c. Se observa con mayor detalle las alteraciones citoplasmáticas y nucleares de los túbulos renales descritos en la figura anterior, pérdida de epitelio de algunos túbulos, ruptura de otros, fragmentación citoplasmática y núcleos vacuolizados y rotos. H-E, 100x.**



a

b

**Figura 11. Tejido renal de ratón C57BL/6 inyectado con una  $DL_{50}$  del veneno de *Tityus nororientalis* (Salomón, 2009).**

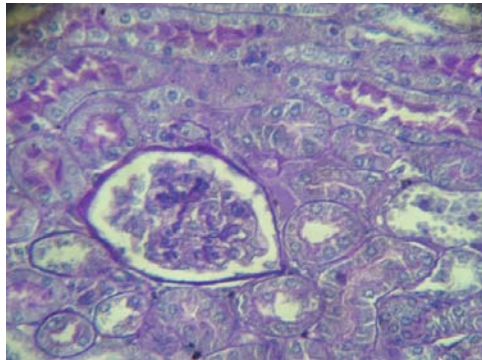
**(a).** Sección de médula renal mostrando asas de Henle con alteración en su epitelio, los cuales presentan pérdida de sus elementos celulares, la mayoría de ellos muestran sólo la silueta de los que fueron células de su pared. H-E, 100x.

**(b).** Vista de una arteria observada en tejido renal de un ratón C57BL/6.

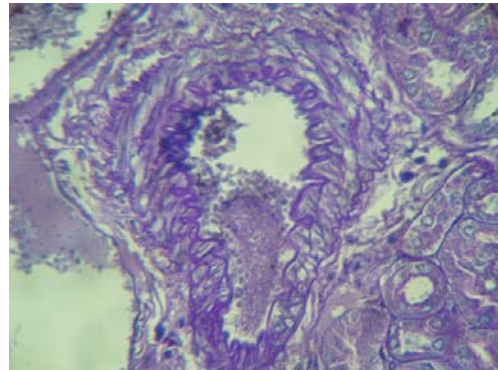
Apréciase la degeneración de la pared arterial, la cual se caracteriza por la ausencia de fibras musculares normales, así como la hialinización de la misma.

**H-E, 100x.**

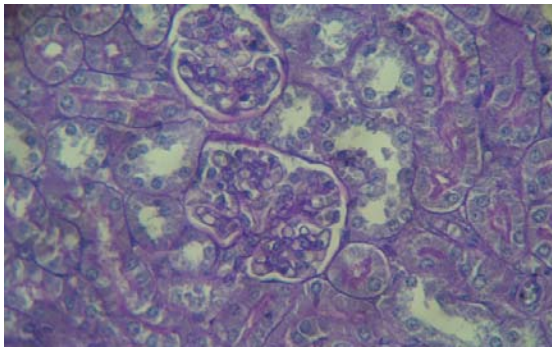




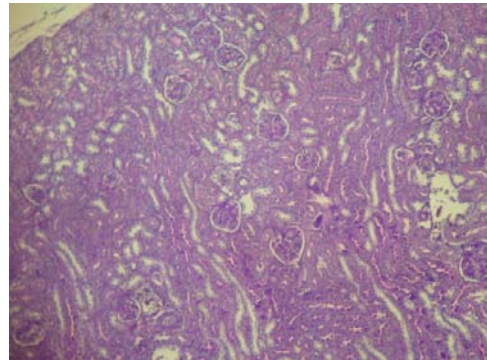
a



b



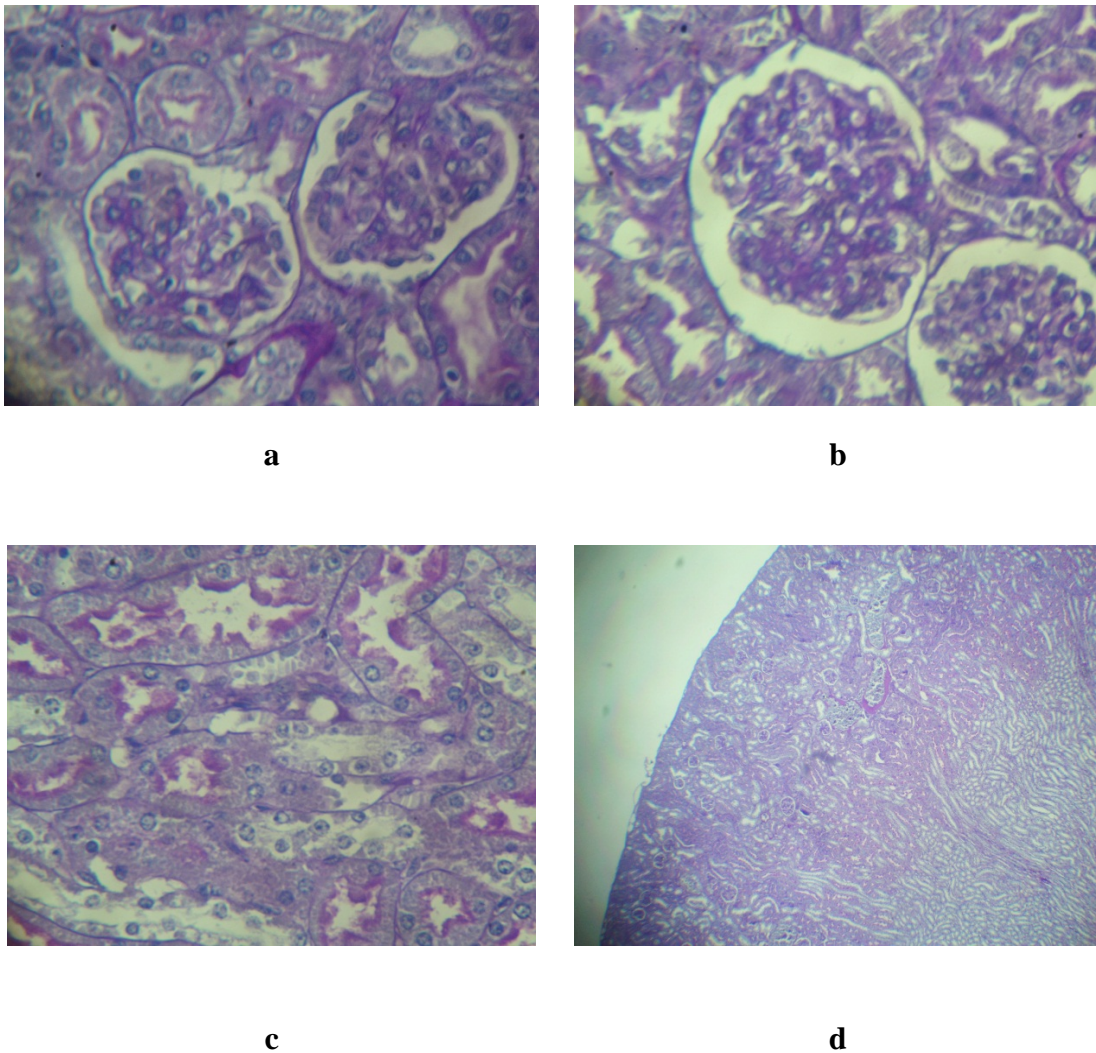
c



d

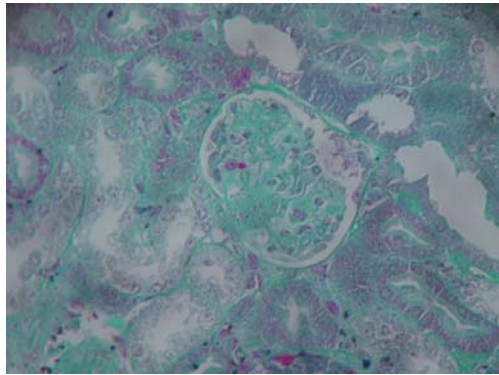
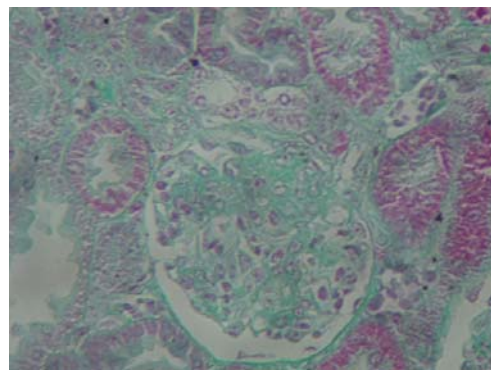
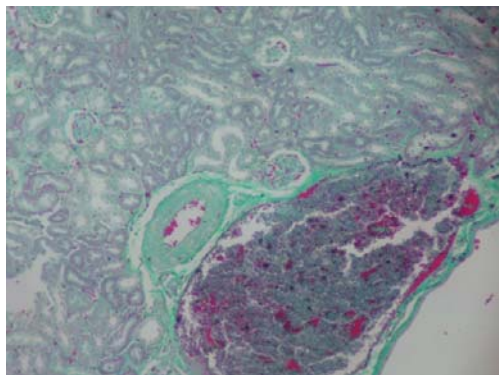
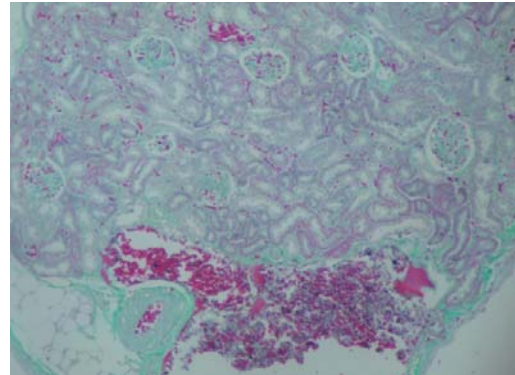
**Figura 12. Tejido renal de ratón C57BL/6 inyectado con una  $DL_{50}$  del veneno de *Tityus discrepans* (Martínez y Martínez, 2012).**

- (a). Dilatación de la capsula de Bowman, con membrana basal (hoja parietal) engrosada. Túbulo contorneado proximal con menor daño. Túbulo contorneado distal con daños más acentuados, PAS, 400x. (b). vaso sanguíneo renal mostrando pared disgregada, fundamentalmente en la capa media. Degeneración intersticial intertubular. Depósitos de material hialino. PAS, 400x. (c). Gomérulos dilatados. PAS 400x. (d). Panorámica de corteza renal. H-E, 100x.**



**Figura 13. Tejido renal de ratón C57BL/6 inyectado con una  $DL_{50}$  del veneno de *Tityus zulianus* (Hurtado y col., 2012).**

**(a) y (b). Dilatación de la capsula de Bowman, con membrana basal (hoja parietal) engrosada. Túbulo contorneado proximal con menor daño. Túbulo contorneado distal con daños más acentuados, PAS, 400x. (c). Degeneración intersticial intertubular. PAS, 400x. (d). Gomérulos dilatados. PAS 400x. (e). Panorámica de corteza y médula renal. H-E, 25x.**

**a****b****c****d**

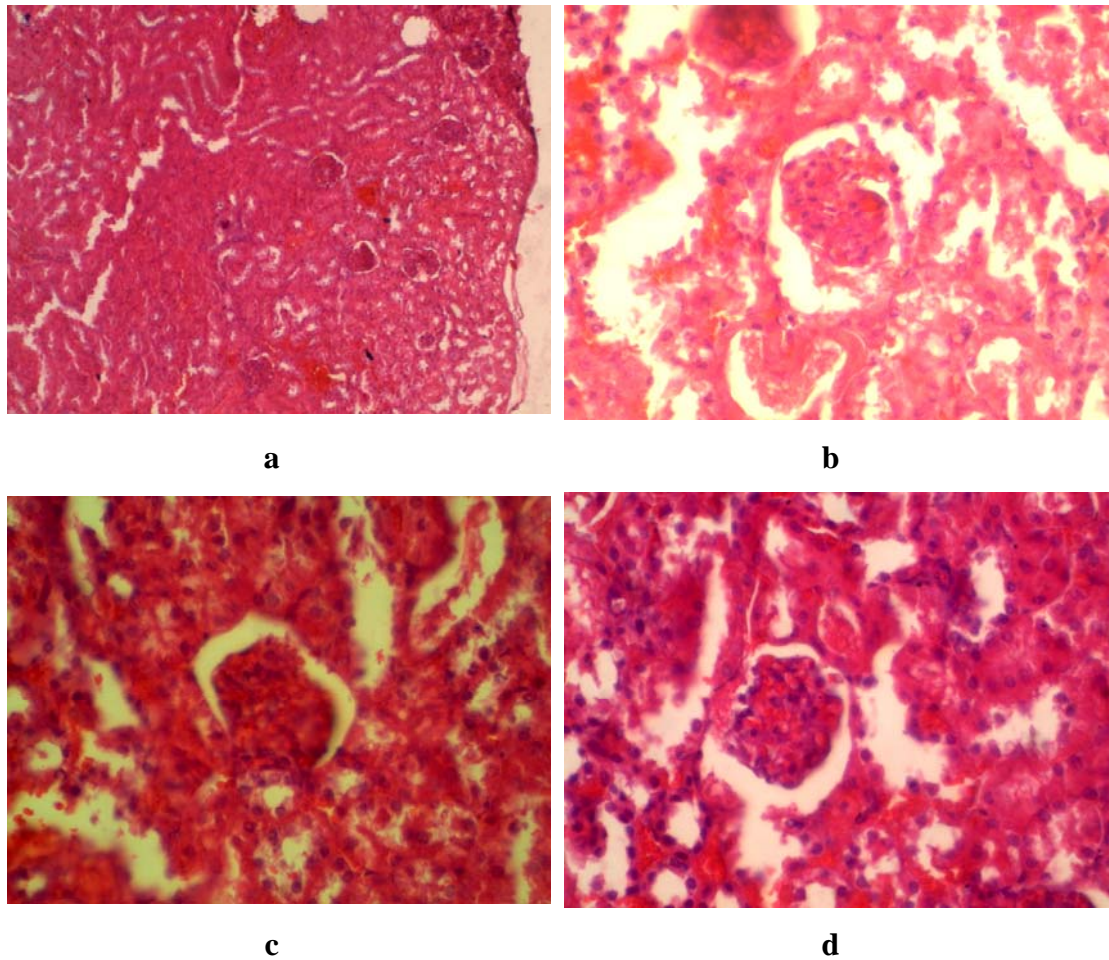
**Figura 14. Tejido renal de ratón C57BL/6 inyectado con una  $DL_{50}$  del veneno de *Tityus zulianus* (Hurtado y col., 2012).**

**(a) y (b). Glomérulo sustituido por material fibroso. Tricrómico, 400x. (c) y (d). Vaso sanguíneo con acentuada congestión vascular. Túbulos renales con discreta alteración de la estructura tubular. Dilatación de la capsula de Bowman con fibrosis glomerular. Tricrómico, 100x.**



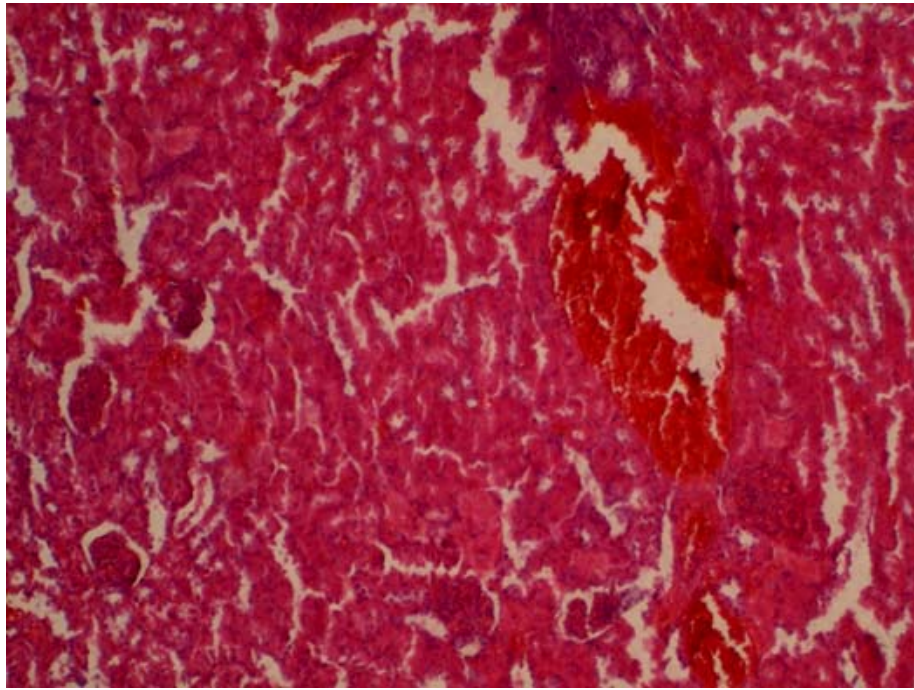
**Tabla 2. Comparación de los cambios histológicos agudos observados en riñones de ratones C57BL/6 inyectado con una DL<sub>50</sub> del veneno de *Tityus nororientalis* (Salomón, 2009), de *Tityus discrepans* (Martinez y Martinez, 2012), de *Tityus zulianus* (Hurtado y col. 2012) con una DL<sub>50</sub> de la ponzoña de *Rhinella marina* (este estudio).**

<i>Tityus nororientalis</i> DL <sub>50</sub> , vip = 8,43 µg.g <sup>-1</sup>	<i>Tityus discrepans</i> DL <sub>50</sub> , vip = 11,22 µg.g <sup>-1</sup>	<i>Tityus zulianus</i> DL <sub>50</sub> , vip = 14,13 µg.g <sup>-1</sup>	<i>Rhinella marina</i> DL <sub>50</sub> , vip = 47,39 µg.g <sup>-1</sup>
Dilatación de la capsula de Bowman	Dilatación de la capsula de Bowman con membrana basal (hoja parietal) engrosada y esclerosis del tejido glomerular.	Congestión glomerular acentuada	Cambios isquémicos glomerulares e intersticiales leves
Todos los túbulos colectores y contorneados proximales y distales mostraron alteración de su citoarquitectura, más evidente en los contorneados distales; tal deterioro se caracterizó por fragmentación del citoplasma, vacuolas nucleares y cromatólisis.	Túbulos renales con discreta alteración de la estructura tubular.	Glomérulo-esclerosis segmentaria y focal	Intersticios con fibrosis leve perivascular
Degeneración del epitelio tubular, túbulos necróticos, rotos e irregularmente descamados. Los proximales con pérdida del ribete en cepillo, células con citoplasma fragmentado y núcleos con vacuolización y cromatólisis.	El túbulo contorneado proximal con menor daño mantiene su ribete en cepillo.	Cambios isquémicos túbulo intersticiales leves	Los segmentos tubulares proximales muestran vacuolización citoplasmática del epitelio, pérdida parcial del ribete en cepillo y acortamiento del epitelio.
Presencia de “gránulos rojizos” en el citoplasma de las células epiteliales tubulares.	El túbulo contorneado distal con daños más acentuados muestra alteraciones celulares leves con pérdida de elementos nucleares compatibles con degeneración celular.	Dilatación y ectasia vascular acentuada	Congestión vascular acentuada No se observó infiltrado inflamatorio
Ruptura de la íntima de los vasos sanguíneos; en la túnica media se aprecian fibras musculares en degeneración con gran vacuolización.	Vaso sanguíneo renal mostrando congestión vascular y pared disgregada, fundamentalmente en la capa media.	Fibrosis intersticial leve y difusa cortico-medular con atrofia tubular	No se observó necrosis
La coloración PAS demostró el engrosamiento de algunas membranas basales.	Fibrosis intersticial (degeneración intersticial intertubular).	No se observó infiltrado inflamatorio	
No se observó inflamación	Depósitos de material hialino.	No se observó necrosis	
	No se observó inflamación		
	No se observó necrosis		



**Figura 15. Tejido renal de ratón C57BL/6 inyectado con una  $DL_{50}$  del veneno del pez *Thallasophryne maculosa* (Pereira, 2013).**

- (a) Parénquima cortical renal con presencia de glomérulos con cambios degenerativos y necrosis hemorrágica. H-E, 4X. (b) Se observa colapso de los capilares glomerulares con necrosis fibrinoide y trombosis vascular. H-E, 40X. (c) Se observa penacho glomerular congestivo, degeneración glucogénica de las células de los túbulos renales con presencia de material eosinofílico amorfo en la luz de los túbulos renales. E-H, 40X. (d) Glomérulos congestivos y arteriolas glomerulares congestivas. H-E, 40X.**



**Figura 16. Tejido renal de ratón C57BL/6 inyectado con una  $DL_{50}$  del veneno del pez *Thallasophryne maculosa* (Pereira, 2013).**

**Se observa área renal de transición cortico-medular, con presencia de hemorragia en el intersticio. H-E, 4X.**

## **CAPITULO V**

### **CONCLUSIONES**

1. Se observaron un total de 12 manifestaciones clínicas inducidas por la ponzoña de *Rhinella marina* en ratones C57BL/6; con aparición gradual en el curso temporal de toxicidad aguda. Los signos inmediatos de toxicidad aguda fueron contracción abdominal e hipoactividad, seguida de piloerección y secreción ocular; entre los 10 y 20 minutos, exoftalmos bilateral, taquipnea, sialorrea e incoordinación de la marcha
2. La ponzoña de *Rhinella marina* a una DL<sub>50</sub>, como dosis controlada, produjo alteraciones histológicas en el tejido renal de los ratones de experimentación.
3. Las alteraciones consistieron en cambios glomerulares y tubulares isquémicos leves y una fibrosis intersticial leve perivascular.
4. Al comparar los cambios histológicos en tejido renal de ratones C57BL/6 ocasionados por la ponzoña de la *Rhinella marina* con los provocados por el veneno de otras grupos taxonómicos; la ponzoña de *Rhinella marina* produce menos alteraciones en las estructuras que conforman el tejido renal.
5. En los riñones de ratones utilizados como control no se evidencio ninguna alteración histológica.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Albornoz E., Cedeño O., Pereira M. Cambios histopatológicos agudos causados por el veneno de *Tityus nororientalis* (Scorpiones: Buthidae) en miocardio de ratones NMRI, BALBc y C57BL/6. Universidad de Oriente, Núcleo de Anzoátegui, Escuela de Ciencias de la Salud, Barcelona (Trabajo de Grado), pp. 59, 2009.
- Alcalá O., Mendoza G., Navarro N. Actividad biológica *in vitro* y dosis letal cincuenta del veneno de *Thalassophryne maculosa* (Pisces, Batrachoididae). Universidad de Oriente, Núcleo de Anzoátegui, Escuela de Ciencias de la Salud, Barcelona (Trabajo de Grado), pp. 39, 2010.
- Acosta L., Cayamo Y., Graziani D Efectos biológicos y DL<sub>50</sub> del veneno de *Crotalus durissus pifanorum*. Estudio comparativo entre ejemplares juveniles y adultos en el modelo múrido C57BL/6. Universidad de Oriente, Núcleo de Anzoátegui, Escuela de Ciencias de la Salud, Barcelona (Trabajo de Grado), pp. 45, 2008.
- Arrijoja A., Maneiro F. Variabilidad genérica de la susceptibilidad al veneno de cuatro subespecies de cascabeles venezolanas en ratones C57BL/6. Universidad de Oriente, Núcleo de Anzoátegui, Escuela de Ciencias de la Salud, Barcelona (Trabajo de Grado), pp. 54, 2009.
- Astudillo Y., Bejarano M. Efectos biológicos y Dosis Letal Cincuenta (DL<sub>50</sub>) del veneno de *Bothrops colombiensis* (Serpentes, Viperidae). Estudio comparativo entre ejemplares juveniles y adultos. Universidad de Oriente, Núcleo de Anzoátegui, Escuela de Ciencias de la Salud, Barcelona (Trabajo de Grado), pp. 46, 2008.

Baldi P., Chalhoub Y. Efectos biológicos y  $DL_{50}$  del veneno de *Crotalus durissus cumanensis*. Estudio comparativo entre ejemplares juveniles y adultos. Universidad de Oriente, Núcleo de Anzoátegui, Escuela de Ciencias de la Salud, Barcelona (Trabajo de Grado), pp. 52, 2007.

Blanco M., Rojas A. Efectos biológicos del veneno de *Bothrops venezuelensis* (Serpiente Tigra Mariposa), juveniles y adultas. Trabajo de Grado para optar al título de Bachiller en Ciencias, Cátedra de Metodología de la Investigación, U. E. Nuestra Señora de Lourdes II, Puerto La Cruz, pp. 63, 2005.

Beccari E. A method for reducing the number of pharmacological assays. *Nature*, 163: 534, 1949.

Boadas J., Marcano J. Cuantificación del volumen, cantidad de proteínas y evaluación de la toxicidad del veneno de *Rhopalurus laticauda* (Scorpiones: Buthidae). Universidad de Oriente, Núcleo de Anzoátegui, Escuela de Medicina, Barcelona (Trabajo de Grado), pp. 57, 2004.

Bónoli A., Chihane C., Ferreira J.. Efectos biológicos (proteolítico y procoagulante) *in vitro* y  $DL_{50}$  sobre el modelo murino C57BL/6 del veneno de *Bothriechis schlegelii* (Serpentes, Viperidae). Universidad de Oriente, Núcleo de Anzoátegui, Escuela de Ciencias de la Salud, Barcelona (Trabajo de Grado), pp. , 2009.

Botero D. Parasitosis Humanas. 2003. Disponible en: [http://books.google.co.ve/books?id=zwj-XwV2wOzgC&pg=PA433&lpg=PA433&dq=emponzo%C3%B1amiento+por+sapo&source=bl&ots=5SEaKnRZ9K&sig=QqXH5nexYaLzN2BMX4WCIBo6znw&hl=e s419&ei=FxA0TtbmDaHu0gHP8YiIBA&sa=X&oi=book\\_result&ct=result&resnum](http://books.google.co.ve/books?id=zwj-XwV2wOzgC&pg=PA433&lpg=PA433&dq=emponzo%C3%B1amiento+por+sapo&source=bl&ots=5SEaKnRZ9K&sig=QqXH5nexYaLzN2BMX4WCIBo6znw&hl=e s419&ei=FxA0TtbmDaHu0gHP8YiIBA&sa=X&oi=book_result&ct=result&resnum)

=4&ved=0CCoQ6AEwAw#v=onepage&q=emponzo%C3%B1amiento%20por%20sa  
po&f=false (acceso 30 de julio de 2011).

Cazorla M., Quijada D., Salazar D. Efectos biológicos y dosis letal 50 (DL<sub>50</sub>) del veneno de *Crotalus durissus ruruima* en tres modelos múridos. Universidad de Oriente, Núcleo de Anzoátegui, Escuela de Ciencias de la Salud, Barcelona (Trabajo de Grado), pp. 55, 2009.

Chadee R. Evaluación de la actividad biológica del veneno de ejemplares machos y hembras de *Tityus nororientalis* (Scorpiones, Buthidae) en el modelo múrido C57BL/6. Universidad de Oriente, Núcleo de Sucre, Escuela de Ciencias, Cumaná (Trabajo de Grado), pp. 45, 2010.

Chinchilla Y., Franco L. Cuantificación del volumen y de la cantidad de proteínas del veneno de varias especies de *Tityus* de la Región Nororiental de Venezuela. Universidad de Oriente, Núcleo de Anzoátegui, Escuela de Medicina, Barcelona (Trabajo de Grado), pp. 45, 2003.

Cornejo P. Registro de *Tityus tenuicauda* Prendini, 2001 (Scorpiones, Buthidae) para Venezuela. Aspectos farmacológicos de su veneno. Universidad de Oriente, Núcleo de Sucre, Postgrado en Biología Aplicada, Cumana (Trabajo de Maestría), pp. 90, 2008.

Cova Y. Evaluación de la actividad biológica del veneno de tres especies venezolanas de importancia médica del género *Tityus* (Scorpiones, Buthidae). Universidad de Oriente, Núcleo de Sucre, Escuela de Ciencias, Cumaná (Trabajo de Grado), pp. 60, 2008.

- Da Cámara N., Rivas R., Rojas P. Evaluación de la actividad biológica y dosis letal cincuenta (DL<sub>50</sub>) del veneno de *Tityus nororientalis* (Scorpiones, Buthidae) en ratones NMRI. Universidad de Oriente, Núcleo de Anzoátegui, Escuela de Ciencias de la Salud, Barcelona (Trabajo de Grado), pp. 32, 2008.
- De Sousa L. Especie nueva de *Tityus* (Scorpiones, Buthidae) de la Serranía del Turimiquire, Nororiente de Venezuela. Caracterización morfológica, geográfica y toxinológica. Universidad de Oriente, Núcleo de Anzoátegui, Barcelona (Trabajo de Ascenso a Profesor Asociado), pp. 167, 2006.
- De Sousa L., Borges A. Escorpiones y escorpionismo en Venezuela. En: Enfoques y Temáticas en Entomología (J. Arrivillaga, M. El Souki, B. Herrera, editores). Caracas: Ediciones Astrodata, pp.154-165. 2009.
- De Sousa-Insana L., Pino O. Estudio comparativo de la actividad biológica del veneno de ejemplares hembras y machos de *Tityus nororientalis* (Scorpiones, Buthidae) en el modelo múrido C57BL/6. Colegio Juan Jacobo Rousseau, Cátedra de Metodología de la Investigación, Puerto La Cruz (Trabajo de Grado para optar al Título de Bachiller en Ciencias), pp. 49, 2009.
- De Sousa L., Parrilla-Álvarez P., Pérez Di Gaeta P., Romero L., Quiroga M. Evaluación de la actividad biológica del veneno de *Tityus gonzalespongai* (Scorpiones, Buthidae) en ratones C57BL/6. *Saber*, 21(1): 50-62, 2009.
- De Sousa L., Borges A., Vásquez-Suárez A., Op den Camp H., Chadee-Burgos R., Romero-Bellorín M., De Sousa-Insana L., Pino-García O. Sex matters: differences in venom toxicity and antigenicity between females and males of the scorpion *Tityus nororientalis* (Buthidae). *Journal of Venom Research*, 1: 61-70, 2010.



- Dixon W., Mood A. A method for obtaining and analyzing sensitivity data. *Journal American Statistical Association*, 43: 109-126, 1948.
- Finney DJ. Probit Analysis. In: *Statistical Methods in Biological Assays* (Finney DJ. Ed.). London, Charles Griffin & Co. Pp. 513-553, 1952.
- Glantz S. *Primer of Biostatistics*, 5<sup>th</sup> edición, Mc Graw- Hill, 2002.
- Hurtado A., Montañó L., Rodríguez F. 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. Universidad de Oriente, Núcleo de Anzoátegui, Escuela de Ciencias de la Salud, Barcelona (Trabajo de Grado), pp. 82, 2008.
- ITIS (Integrated Taxonomy Information System). *Rhinella Fitzinger*, 1826. Disponible en: [http://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search\\_topic=TSN&search\\_value=773237](http://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_topic=TSN&search_value=773237) (acceso 30 de julio de 2011).
- IST (International Society on Toxinology). 6<sup>th</sup> European Symposium on Animal, Plant and Microbial Toxins. Basle, Suiza, 1984.
- Jiménez M., Paulo M. Separación en fracciones de los constituyentes proteicos del veneno de *Tityus gonzalespongai* (Scorpionida: Buthidae). Universidad de Oriente, Núcleo de Anzoátegui, Escuela de Medicina, Barcelona (Trabajo de Grado), pp. 58. 2001.
- Lichtfield JT., Wilcoxon F. 1949. A simple method for evaluating dose-effect experiments. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 96: 99-113.
- Lowe S., Browne M., Boudjelas S., De Poorter M. *100 of the World's Worst Invasive Alien Species. A selection from the Global Invasive Species*. Published by The Invasive

Species Specialist Group (ISSG) a specialist group of the Species Survival Commission (SSC) of the World Conservation Union (IUCN), 12pp. First published as special lift-out in *Aliens* 12, December 2000. Updated and reprinted version: November 2004

Marcano M., Mundaray J. Toxicidad aguda y evaluación de la Dosis Letal Cincuenta ( $DL_{50}$ ) en ratones C57/B6 inducida por el veneno de una nueva especie del género *Tityus* (*Tityus* n. sp. 1.) del estado Monagas. Universidad de Oriente, Núcleo de Anzoátegui, Escuela de Medicina, Barcelona (Trabajo de Grado), pp. 77, 2000.

Marín D., y Rodríguez A. Toxicidad aguda y evaluación de la Dosis Letal Cincuenta ( $DL_{50}$ ) en el modelo murino C57/B6 inducida por el veneno de *Tityus* sp. de Sabana de Piedra, estado Monagas. Universidad de Oriente, Núcleo de Anzoátegui, Escuela de Medicina, Barcelona (Trabajo de Grado), pp. 64, 2000.

Meier J., Theakston R. Approximate  $LD_{50}$  determinations of snake venoms using eight to ten experimental animals. *Toxicon*. 24(4): 395-401, 1986.

Molinengo L. The curve doses vs survival time in the evaluation of acute toxicity. *J. Pharm. Pharmacol.* 31: 343-344, 1979.

Reed LJ., Muench H. A simple method of estimating percent endpoints. *Am. J. Hyg.* 27: 493-497, 1938.

Romero, M. 2010. Elaboración del mapa clínico-epidemiológico y toxinológico del escorpionismo en el estado Sucre, Venezuela. Trabajo de Grado para *Magíster Scientiarium*, Postgrado en Biología Aplicada, Universidad de Oriente, Cumaná.

- Ross ME. Pharmacodynamics. Mechanisms of drug action and the relationships between drug concentration and effect. In: Hardman JG., Limbird LE., Molinoff PB., Ruddon RW., Goodman-Gilman A. Ed. *Goodman and Gilman, the pharmacological basis of therapeutics*. Ninth Edition. New York: McGraw-Hill, 29-41 p. 1996.
- Ruiz-Chópita C., Ruiz-Chópita C. Variabilidad geográfica e intraespecífica de la toxicidad del veneno de *Bothrops colombiensis* (Serpentes, Viperidae) en Venezuela. Universidad de Oriente, Núcleo de Anzoátegui, Escuela de Ciencias de la Salud, Barcelona (Trabajo de Grado), pp. 66, 2009.
- Salomón L. Cambios histológicos causados por el veneno de *Tityus nororientalis* (Scorpiones, Buthidae) en riñones de ratones BALBc, NMRI y C57BL/6. Universidad de Oriente, Núcleo de Anzoátegui, Escuela de Ciencias de la Salud, Barcelona (Trabajo de Grado), pp. 60, 2009.
- Sánchez R., Suárez G. Efectos biológicos y Dosis Letal 50 de la especie *Lachesis muta muta* (Serpentes, Viperidae). Universidad de Oriente, Núcleo de Anzoátegui, Escuela de Ciencias de la Salud, Barcelona (Trabajo de Grado), pp. 39, 2008.
- Sanquíz M., González Z. Evaluación de la actividad biológica del veneno de *Tityus nororientalis* en ratones de la cepa BALB/c. Colegio Nuestra Señora de Lourdes, Cátedra de Metodología de la Investigación, Puerto La Cruz (Trabajo de Grado para optar al Título de Bachiller en Ciencias), pp. 56, 2008.
- Sevcik C. LD<sub>50</sub> Determination: objections to the method of Beccari as modified by Molinengo. *Toxicol*, 25: 779-783, 1987.
- Turkali I. Evaluación de la actividad biológica del veneno de *Tityus nororientalis* (Scorpiones, Buthidae) de Alto Llano, municipio Sotillo, estado Anzoátegui.

Universidad de Oriente, Núcleo de Anzoátegui, Escuela de Medicina, Barcelona (Trabajo de Grado, Médico Cirujano), pp. 58, 2004.

Valecillos R. Separación cromatográfica de las fracciones del veneno de una nueva especie del género *Tityus* (*T. quirogae*). Universidad de Oriente, Núcleo de Anzoátegui, Escuela de Medicina, Barcelona (Trabajo de Grado, Médico Cirujano), pp. 46, 2001.

Valerio M. Comparación de los efectos biológicos del veneno de ejemplares juveniles y adultos de *Crotalus durissus vegrandis* Klauber, 1941 (Serpentes, Viperidae). Universidad de Oriente, Núcleo de Anzoátegui, Escuela de Ciencias de la Salud, Barcelona (Trabajo de Grado), pp. 50, 2007.

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

<b>TÍTULO</b>	<b>CAMBIOS HISTOLOGICOS CAUSADOS POR LA PONZOÑA DE <i>Rhinella marina</i> (ANURA, BUFONIDAE) EN TEJIDO RENAL DE RATONES C57BL/6</b>
<b>SUBTÍTULO</b>	

### AUTOR (ES):

<b>APELLIDOS Y NOMBRES</b>	<b>CÓDIGO CVLAC / E MAIL</b>
<b>Rodríguez M., Claudimar</b>	<b>CVLAC:</b> 18.299.674 <b>E MAIL:</b> claudimar_rodriguez86@hotmail.com
<b>Torres C., Marcela</b>	<b>CVLAC:</b> 17.901.308 <b>E MAIL:</b> marcela_torres@aol.com

**PALÁBRAS O FRASES CLAVES:** ponzoña, sapo, *Rhinella marina*, toxicidad aguda

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

<b>ÀREA</b>	<b>SUBÀREA</b>
Escuela de Ciencias de la Salud	Farmacología
	Toxinología

**RESUMEN (ABSTRACT):**

En cada ratón hembra C57BL/6 (n = 4) se administró, por vía intraperitoneal, una DL<sub>50</sub> de la ponzoña de *Rhinella marina*, equivalente a 14,13 µg.g<sup>-1</sup> de ratón. Luego fueron evaluados durante sesenta minutos. El tiempo de aparición de los signos inducidos por efecto de toxicidad aguda, de la ponzoña de *Rhinella marina*, fue gradual. Los signos inmediatos de toxicidad aguda, fueron contracción abdominal, hipoactividad, piloerección y secreción ocular. Posterior a éstos, como expresión de toxicidad grave, se instaló exoftalmos, taquipnea, sialorrea, incoordinación de la marcha, convulsiones y relajación de esfínteres. El exoftalmos bilateral, como signo de toxicidad grave, se expresó exclusivamente en el grupo de ratones que murieron (10 minutos) cuando se comparó con los vivos. Las convulsiones, en el espectro de toxicidad grave, surgen exclusivamente en este grupo y precede a la muerte. Los ratones sobrevivientes (n = 2) fueron sacrificados para evaluar los cambios histológicos en el tejido renal causados por el efecto tóxico de la ponzoña de *Rhinella marina*. En el tejido renal se observó congestión vascular acentuada, penachos glomerulares de aspecto normal, algunos discretamente retraídos y congestivos, intersticio con fibrosis leve perivascular. Los segmentos tubulares proximales mostraron vacuolización citoplasmática del epitelio, pérdida parcial del ribete en cepillo y acortamiento del epitelio. En el tejido no se evidenciaron zonas de inflamación o necrosis.

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

**CONTRIBUIDORES:**

<b>APELLIDOS Y NOMBRES</b>	<b>ROL / CÓDIGO CVLAC / E_MAIL</b>				
<b>Matos P., Mercedes del V.</b>	<b>ROL</b>	<b>CA</b>	<b>AS</b>	<b>TU</b>	<b>JU X</b>
	<b>CVLAC:</b>	<b>8.032.140</b>			
	<b>E_MAIL</b>	<b>mmatosb@cantv.net</b>			
<b>Iraida Daboin</b>	<b>ROL</b>	<b>CA</b>	<b>AS</b>	<b>TU</b>	<b>JU X</b>
	<b>CVLAC:</b>	<b>9.964.684</b>			
	<b>E_MAIL</b>	<b>irdaboin@hotmail.com</b>			
<b>De Sousa, Leonardo</b>	<b>ROL</b>	<b>CA</b>	<b>AS</b>	<b>TU X</b>	<b>JU</b>
	<b>CVLAC:</b>	<b>14.214.493</b>			
	<b>E_MAIL</b>	<b>leonardodesousa@yahoo.com</b>			

**FECHA DE DISCUSIÓN Y APROBACIÓN:**

<b>2013</b>	<b>10</b>	<b>18</b>
<b>AÑO</b>	<b>MES</b>	<b>DÍA</b>

**LENGUAJE. SPA**

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

**ARCHIVO (S):**

<b>NOMBRE DE ARCHIVO</b>	<b>TIPO MIME</b>
Tesis.rhinellamarina.ponzoña.renal.doc	. MS.word

**ALCANCE**

**ESPACIAL:** Escuela de Ciencias de la Salud

**TEMPORAL:**

**TÍTULO O GRADO ASOCIADO CON EL TRABAJO:**

Médico Cirujano

**NIVEL ASOCIADO CON EL TRABAJO:**

Pregrado

**ÁREA DE ESTUDIO:**

Sección de Farmacología, Departamento de Ciencias Fisiológicas

**INSTITUCIÓN:**

Universidad de Oriente, Núcleo de Anzoátegui



METADATOS PARA TRABAJOS DE GRADO, TESIS Y ASCENSO:



UNIVERSIDAD DE ORIENTE  
CONSEJO UNIVERSITARIO  
RECTORADO

CUN°0975

Cumaná, 04 AGO 2009

Ciudadano  
**Prof. JESÚS MARTÍNEZ YÉPEZ**  
Vicerrector Académico  
Universidad de Oriente  
Su Despacho

Estimado Profesor Martínez:

Cumplo en notificarle que el Consejo Universitario, en Reunión Ordinaria celebrada en Centro de Convenciones de Cantaura, los días 28 y 29 de julio de 2009, conoció el punto de agenda **"SOLICITUD DE AUTORIZACIÓN PARA PUBLICAR TODA LA PRODUCCIÓN INTELECTUAL DE LA UNIVERSIDAD DE ORIENTE EN EL REPOSITORIO INSTITUCIONAL DE LA UDO, SEGÚN VRAC N° 696/2009"**.

Leído el oficio SIBI - 139/2009 de fecha 09-07-2009, suscrita por el Dr. Abul K. Bashirullah, Director de Bibliotecas, este Cuerpo Colegiado decidió, por unanimidad, autorizar la publicación de toda la producción intelectual de la Universidad de Oriente en el Repositorio en cuestión.

UNIVERSIDAD DE ORIENTE  
SISTEMA DE BIBLIOTECA

RECIBIDO POR *[Firma]*

FECHA *5/8/09* HORA *5:20*

Comunicación que hago a usted a los fines consiguientes.

Cordialmente,

*[Firma]*  
JUAN A. BOLAÑOS CUNPELE  
Secretario



C.C: Rectora, Vicerrectora Administrativa, Decanos de los Núcleos, Coordinador General de Administración, Director de Personal, Dirección de Finanzas, Dirección de Presupuesto, Contraloría Interna, Consultoría Jurídica, Director de Bibliotecas, Dirección de Publicaciones, Dirección de Computación, Coordinación de Telesinformática, Coordinación General de Postgrado.

JABC/YGC/maruja

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

**DERECHOS**

De acuerdo al artículo 41 del reglamento de trabajos de grado (Vigente a partir del II Semestre 2009, según comunicación CU-034-2009)

“Los Trabajos de grado son exclusiva propiedad de la Universidad de Oriente y solo podrán ser utilizadas a otros fines con el consentimiento del consejo de núcleo respectivo, quien lo participara al Consejo Universitario “

**Claudimar Rodríguez Martínez**

**AUTOR**

**Marcela Torres Campos**

**AUTOR**

**Leonardo De Sousa**

**TUTOR**

**Mercedes Matos**

**JURADO**

**Iraida Daboin**

**JURADO**

**Rosibel Villegas**

**POR LA SUBCOMISION DE TESIS**