



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

VARIACIÓN ONTOGÉNICA DEL VENENO DE *Bothrops colombiensis* (SERPENTES, VIPERIDAE); ESTUDIO COMPARATIVO ENTRE UNA MADRE Y SUS CRÍAS

Asesor

Prof. Demetrio Kiriakos

Realizado por:

Astudillo Nuñez, Heira de los Ángeles

Osuna González, Judiel Carolina

TESIS PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA OPTAR AL TÍTULO DE
MÉDICO CIRUJANO

Barcelona, Mayo de 2010.



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

VARIACIÓN ONTOGÉNICA DEL VENENO DE *Bothrops colombiensis* (SERPENTES, VIPERIDAE); ESTUDIO COMPARATIVO ENTRE UNA MADRE Y SUS CRÍAS

Asesor

Prof. Demetrio Kiriakos

Realizado por:

Astudillo Nuñez, Heira de los Ángeles

Osuna González, Judiel Carolina

TESIS PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA OPTAR AL TÍTULO DE
MÉDICO CIRUJANO

Barcelona, Mayo de 2010.

RESUMEN

Variación Ontogénica del veneno de *Bothrops colombiensis* (Serpentes, Viperidae); Estudio comparativo entre una madre y sus crías. Astudillo N., Heira; Osuna G., Judiel y Kiriakos, Demetrio. Universidad de Oriente, Núcleo Anzoátegui, 2009.

Se determinó la DL_{50} del veneno de un ejemplar adulto de *Bothrops colombiensis* y de sus crías, en el modelo múrido C57bl/6, hembra, inyectados por vía intraperitoneal y para una hora de observación, por el método secuencial de Dixon y Mood (1948) modificado por Sevcik (1987). Los resultados obtenidos para la DL_{50} del veneno del ejemplar adulto fue 15,85 mg/kg y la del veneno de las crías 28,37 mg/kg. Los signos clínicos más frecuentes, observados luego de la inyección del veneno del ejemplar adulto *Bothrops colombiensis* fueron: taquipnea, hipoactividad, postración y períodos de apnea, con frecuencias que variaron entre 68,65% y 100%, con un promedio de tiempo de aparición entre 1 y 53 minutos. Mientras que las manifestaciones observadas tras la inyección del veneno de las crías de *Bothrops colombiensis*, en múridos C57bl/6, en 60 minutos de observación fueron taquipnea, hipoactividad, postración y posición antálgica, apareciendo antes de los 20 minutos de observación. En conclusión, existen diferencias significativas en cuanto a la potencia del veneno de *Bothrops colombiensis* con relación a sus estadios ontogénicos, siendo el de las crías menos potente que el veneno de la madre mientras que las manifestaciones tóxicas agudas, en el modelo múrido C57bl/6, inyectados vip fueron similares en ambos estadios ontogénicos.

INDICE

AGRADECIMIENTOS	ii
DEDICATORIA	iii
LISTA DE TABLAS.....	vii
LISTA DE GRAFICOS	viii
INTRODUCCIÓN.....	1
OBJETIVOS.....	10
JUSTIFICACIÓN	11
METODOLOGÍA	12
RESULTADOS.....	17
DISCUSION	288
CONCLUSIONES	333
RECOMENDACIONES.....	344
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....	355
ANEXOS	43

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad De Oriente, la casa más alta, y a todos nuestros profesores por ser pilares fundamentales en este proceso de enseñanza aprendizaje.

Al Centro de Investigaciones de Ciencias de la Salud y en especial al Dr. Demetrio Kiriakos por su valiosa ayuda y colaboración en la realización de este estudio.

Al Dr. Leonardo De Sousa por su asesoría en el procesamiento de los datos estadísticos.

Al Sr. Luis Fernando Navarrete, porque sin su ayuda no habría sido posible culminar la parte experimental de nuestra tesis.

A nuestra compañera Alejandra Rodríguez por su gran ayuda y orientación durante la última etapa de este trabajo de investigación.

Por último a nuestros padres, amigos, y demás personas que día a día estuvieron a nuestro lado apoyándonos y, de alguna u otra manera brindándonos su colaboración para que pudiésemos culminar esta etapa en nuestras vidas.

GRACIAS!!!

DEDICATORIA

A Dios, ser sublime que estás presentes en todo momento, por haberme dado el regalo de la vida y por permitirme alcanzar una de mis metas más anheladas.

A mi papá, José Luis porque sé que no ha sido fácil ser padre y madre a la vez, por haber estado siempre que necesité de tus consejos y abrazos, has hecho un excelente trabajo, ¡Te amo!. Gracias por tanta lucha, amor, dedicación y esfuerzo; este triunfo es tuyo.

A mi mamá, Heira porque a pesar de que Dios te llamo a su lado antes de que me tocara emprender este viaje, te aseguraste de enseñarme todo lo necesario para alcanzar mis metas, se que siempre estuviste y estás conmigo, lloraste y reíste conmigo a lo largo de estos 7 años, así que este triunfo también es tuyo, eres la luz que guía mis pasos. ¡Te extraño mami!

A mis hermanos: Gaby, Isis, José Luis, Rafa y Sofi, que este triunfo les sirva de ejemplo para seguir adelante y no tener miedo a soñar, con dedicación, constancia y perseverancia se pueden alcanzar todas las metas, gracias por haberme apoyado durante todo este tiempo, son los mejores hermanos del mundo.

A mi Carmelin, gracias por todos los lindos momentos que me has regalado, por respirar hondo y contar hasta diez cada vez que mi malhumor aparece y por haberme acompañado en la última etapa de mi carrera, sin tu apoyo, todo habría sido mucho más difícil, ¡Te adoro puchi!.

A mis tíos y tías porque de una u otra forma constituyen parte de este largo camino, especialmente a mi tía Maritza por el apoyo y ayuda que me has brindado de manera incondicional.

A la familia Osuna González, por haberme acogido en su seno y hacerme sentir un miembro más de su familia, Diosita eres la mejor.

A mis primos y primas, en especial a Yulimar, Eder, Dayana, Manuel, Junior y Génesis, porque de alguna manera han estado conmigo en las buenas y malas, durante toda mi carrera.

A mis amigos, a todos los que han formado parte de mi vida, especialmente a los que me han acompañado en esta larga travesía Anita, Alejandra, Yamira, María Laura, Ana María, Mary Gaby, Alberto, Boris, Edgardo, Tomás y Luis Alfredo, porque aún cuando cada uno tome rumbos diferentes, siempre exista un tiempito en nuestras agendas para reencontrarnos y seguir riéndonos de las tantas anécdota que compartimos, ¡¡lo logramos muchachos!! Y a los que en este momento no logro recordar, gracias igual.

A mi hermana perdida y compañera de tesis, Judiel porque más que amigas ya formamos parte de la misma familia, gracias por saber estar, porque a pesar de que en los últimos tiempos no hemos compartido tanto como al principio, aún me sigues dedicando tiempo de calidad, sólo tu y yo sabemos cuanto esfuerzo fue necesario para la culminación de esta tesis, eres la hermanita que Dios me permitió escoger, ¡Yupi, terminamos!.

A la Universidad de Oriente y a nuestros profesores, a todos los que han formado parte de esta gran travesía, gracias por habernos dado las herramientas para que, de hoy en adelante, sigamos labrando nuestro futuro y cosechando éxitos, especialmente a los Drs. Kiriakos y De Sousa porque más que profesores, cumplieron el papel de padres para nosotras durante la realización de esta investigación.

A todas aquellas personas que, de de alguna u otra forma han formado parte de mi vida y en algún momento influyeron en mi crecimiento personal.

Heira De Los Ángeles Astudillo Nuñez

DEDICATORIA

Primeramente a mi Santísima Trinidad por darme el regalo de la vida y por guiarme en cada uno de mis pasos, porque todo lo que soy proviene de su voluntad.

Mi madre, porque más allá de los momentos difíciles siempre tuviste una palabra sabia para reconfortarme, y por no dejarme caer cuando a mis alas se les olvidaba como volar. Mami gracias por tu ayuda incondicional por estar siempre ahí. Mi vida entera no bastara para pagarte todo lo que has hecho, sin ti me habría sido imposible alcanzar esta meta, y como dices este triunfo es tuyo, todavía me queda mucho camino por recorrer y estoy segura de que de tu mano siempre será más fácil.... TE AMO.

Al ser que Dios designó como mi padre, sin duda alguna la mejor decisión. Porque más que eso fuiste mi mejor ejemplo de lucha, y constancia, y siempre has sido mi ejemplo a seguir, demostrando que a pesar de las adversidades todo es posible, solo hay que soñar. TE QUIERO PAPI

Mis hermanos: Juan José, y Judibel, por siempre apoyarme en el momento en que más los necesité, siempre recibí una palabra de aliento por parte de ustedes que me daban fuerza para continuar. Los quiero mucho.

A Brian, esa personita tan especial que ha estado conmigo durante toda esta etapa de mi vida, dándome su apoyo incondicional, gracias por entenderme y por darme esas palabras de aliento en los momentos cuando más los necesité, siempre ahí estuviste, enseñado que el amor se fortalece ante las dificultades. Gracias por ser mi compañero de viaje en esta larga travesía. Esta meta que hoy veo cumplida deseo te sirva de ejemplo para entender que soñar y ver los sueños cristalizados es posible cuando nos esforzamos y somos capaces de continuar aún ante los obstáculos.

A mis amigos: Samira, Daibells, Jesús, Alejandra, Carmen, Yettzica, Alicia, Ricardo, Tomás, y a todos los que junto conmigo han compartido la experiencia maravillosa de estudiar medicina, amigos si regresara en el tiempo y hoy tuviese que decidir nuevamente que carrera tomar, sin duda alguna volvería a estudiar medicina y le pediría a Dios brindarme la oportunidad de coincidir con ustedes nuevamente, los quiero mucho!

A mi incondicional amiga, hermana y compañera de tesis, gracias por siempre estar a mi lado y por brindarme la oportunidad de conocer el significado de la palabra amiga. Este triunfo hoy lo compartimos y espero sea el primero de los muchos que Dios nos tenga en nuestro camino.

A la familia Contreras Martínez; gracias por acogerme en su hogar y más que eso en sus corazones, a todos muchísimas gracias los tendré siempre presente.

Al Dr. Demetrio Kiriakos, mi mejor ejemplo de que con esfuerzo y dedicación se logran las metas. Dr. Muchas gracias por ser más que nuestro asesor de tesis, por estar siempre allí brindándonos lo mejor que todo ser lleva en sí. Infinitamente gracias.

Y por último pero no menos importante a la Universidad De Oriente la casa más alta y a todos mis profesores por ser pilares fundamentales en este proceso de enseñanza aprendizaje, de cada uno me llevo grandes experiencias, este triunfo es gracias a ustedes.

Judiel Carolina Osuna González

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Datos para el cálculo de la Dosis Letal (DL ₅₀) del veneno del ejemplar adulto de <i>Bothrops colombiensis</i> en ratones C57bl/6 (♀), administrado por VIP para 60 minutos de observación.-----	18
Tabla 2. Frecuencia de muerte inducida por el veneno del ejemplar adulto de <i>Bothrops colombiensis</i> en el modelo múrido C57bl/6 (♀) según la dosis administrada por VIP-----	20
Tabla 3. Datos para el cálculo de la Dosis Letal (DL ₅₀) del veneno de las crías de <i>Bothrops colombiensis</i> en ratones C57bl/6 (♀), administrado por VIP para 60 minutos de observación-----	22
Tabla 4. Frecuencia de muerte inducida por el veneno de las crías de <i>Bothrops colombiensis</i> en el modelo múrido C57bl/6 (♀) según la dosis administrada por VIP, para 60 minutos de observación-----	24
Tabla 5. Signos clínicos de toxicidad observados en ratones C57bl/6, en un lapso de 60 minutos, posterior a la administración intraperitoneal del veneno del ejemplar adulto de <i>Bothrops colombiensis</i> -----	26
Tabla 6. Signos clínicos de toxicidad observados en ratones C57bl/6, en un lapso de 60 minutos, posterior a la administración intraperitoneal del veneno de las crías de <i>Bothrops colombiensis</i> -----	27

LISTA DE GRÁFICOS

- Gráfica 1. Dosis Letal (DL_{50}) del veneno del ejemplar adulto de *Bothrops colombiensis* en ratones C57bl/6 (φ), administrado por VIP para 60 minutos de observación-----19
- Gráfica 2 Dosis Letal (DL_{50}) del veneno de las crías de *Bothrops colombiensis* en ratones C57bl/6 (φ), administrado por VIP para 60 minutos de observación-----23
- Gráfica 3. Comparación de las Dosis Letales 50 (DL_{50}) del veneno del ejemplar adulto y de las crías de *Bothrops colombiensis* en ratones C57bl/6 (φ), administrado por VIP para 60 minutos de observación-----25

INTRODUCCIÓN

Las serpientes son animales vertebrados de cuerpo flexible, alargado y cilíndrico, cubierto de escamas, desprovistas de extremidades y oído externo; pertenecientes a la clase reptilia, orden de los escamados y al suborden serpentes (Arellano, 1987).

Estos reptiles poseen distintos tipos de dentición, clasificándose en: 1. Aglifas: serpientes que presentan dientes en hilera, pequeños, en forma de sierra, carentes de colmillos inoculadores de veneno, sin glándulas venenosas; 2. Opistoglifas: tienen uno o más pares de colmillos en la parte posterior del maxilar superior; 3. Proteroglifas: poseen un par de colmillos fijos y pequeños en la parte anterior del maxilar superior; 4. Solenoglifas: poseen un par de colmillos grandes, fuertes y retractiles, que al estar provistos de articulación, son móviles en su base y pueden disponerse sobre el paladar en posición de reposo, irguiéndose cuando el reptil desea morder, lo cual, constituye un carácter taxonómico de gran importancia (Colimodio y Aguilar, 1993; Gutiérrez y Lomonte, 1989), dichos colmillos pueden ser reemplazados por el lado medial o lateral al hueso; cabe destacar que este recambio no necesariamente es sincrónico, los colmillos nuevos pueden superponerse o superponerse a los viejos y algunas serpientes, eventualmente, pueden tener dos pares de colmillos funcionantes durante el proceso de reemplazo (Campbell y Lamar, 2004).

En Venezuela existen 8 familias (Anomalepididae, Leptothiphlopidae, Tiphlopidae, Aniliidae, Boidae, Colubridae, Viperidae y Elapidae) con aproximadamente 150 especies. Desde el punto de vista médico, las que causan

mayor cantidad de accidentes ofídicos pertenecen a la familia Viperidae (Rodríguez – Acosta y Rengifo, 2004).

Las serpientes de la familia Viperidae se subdividen en tres subfamilias, de las cuales la única representada en América es Crotalinae. Las serpientes de esta subfamilia poseen como característica común un órgano termorreceptor o foseta loreal, que se corresponde con un orificio situado entre las narinas y el ojo de la serpiente, son solenoglifas y de colores sobrios, cabeza grande y triangular (Rodríguez-Acosta y col., 1995).

En nuestro país, pertenecen a esta subfamilia las serpientes llamadas coloquialmente "mapanares", "cascabeles" y "cuaimas", con un total de 26 especies y subespecies, ubicadas en los géneros: *Bothriechis*, *Bothriopsis*, *Bothrops* y *Porthidium* (Mapanares), *Crotalus* (Cascabel) y *Lachesis* (Cuaima) (Campbell y Lamar, 2004).

Dentro de los rasgos característicos de *Bothrops colombiensis* se encuentra una cabeza grande, lanceolada y alargada, marrón obscura y que en la región occipital presenta una mancha o línea y otra a nivel retroocular, de color negro; ojos amarillentos o grises con pupilas elípticas y verticales, su cuerpo tiene una leve forma triangular. La coloración de fondo de ésta serpiente es muy variable, pudiendo ir desde un tono canela, pasando por el marrón grisáceo hasta llegar al pardo negruzco. En su dorso se dibujan de 18 a 25 triángulos en forma de sierra o trapezoidales, cuyos ápices se oponen o se yuxtaponen con los del lado contrario; su cara ventral es amarillenta o gris blancuzco, con un moteado oscuro que aumenta hacia la parte posterior del cuerpo. La cola tiende a ser corta y puntiaguda. Los ejemplares juveniles

son de tonalidad más clara que los adultos y su cola suele ser amarilla o anaranjado claro. La totalidad de cuerpo se encuentra cubierto por escamas, las rostrales son más altas que anchas y apenas se visualizan, las cefálicas son pequeñas y carenadas; poseen 7 u 8 supralabiales, la segunda de éstas, forma el borde anterior de la foseta loreal, entre 9 y 10 infralabiales, 2 preoculares y varias postoculares, pequeñas. Las escamas ventrales varían de 199 a 218 y las subcaudales 59 a 81, en dos series; las dorsales son lanceoladas, carenadas y dispuestas en 23 a 27 filas. En cuanto a su longitud pueden alcanzar hasta los 180 cm (Lancini, 1986).

Se encuentran ampliamente distribuidas por todo el territorio nacional, predominando en la región Costa–Montaña y al norte del Río Orinoco, desde el nivel del mar hasta aproximadamente 1500 mt de altura, con temperaturas promedio de 23°C, ocupando regiones húmedas del piso tropical y subtropical, sabanas y bosques de galería, piedemontes y áreas circundantes a ríos y quebradas (Lancini, 1979; Rodríguez – Acosta y col., 1998). Son de hábitos nocturnos, aunque han sido vistas recorriendo bosques durante el día. En regiones tropicales, los picos de mayor actividad usualmente corresponden con los períodos lluviosos, durante los cuales se alimentan más y aumentan su actividad reproductiva; las hembras son muy prolíficas y pueden llegar a tener más de treinta (30) crías en un parto (Rosenfeld, 1971).

Con respecto a la alimentación, estas víboras exhiben un marcado y consistente comportamiento predador. Las juveniles se alimentan frecuentemente de reptiles y anfibios y en menor proporción, de roedores pequeños, mientras los adultos prefieren mamíferos y otras presas de sangre caliente (Holycross y col., 2002; Andrade y Abe, 1999).

El envenenamiento ofídico resulta de la inyección accidental de veneno por parte de serpientes (Viperidae y Elapidae) que poseen glándulas productoras de venina y que son capaces de depositarlas en un organismo a través de su aparato inoculador (Mota y Mendoza, 1999). Representa un gran problema médico, social y económico en muchas partes del mundo, siendo los más afectados los países subdesarrollados y en vías de desarrollo de Asia, África y las Américas, y es considerado un problema de salud pública en áreas tropicales y subtropicales (Montilla y cols, 2007).

Según estimaciones de la OMS anualmente ocurren aproximadamente 5.400.000 accidentes con serpientes en el mundo, de los cuales, aproximadamente 2.500.000 producen envenenamiento y por esta causa mueren 125.000 personas aproximadamente (Chippaux y Goyffon, 1998).

Las especies del género *Bothrops* han sido las responsables de la mayoría de los envenenamientos por mordedura de serpientes en Latinoamérica (Costa Cardoso y Fan, 1995; Russell y col., 1997; Araujo y col., 2003). En la actualidad, en Argentina se comunican a las autoridades sanitarias alrededor de 7.000 accidentes anuales por serpientes y de éstos, más del 95% son causados por especies del género *Bothrops* (Ministerio de Salud y Acción Social, 1998; García, 2003). En Brasil, las mordeduras por este género representan cerca del 90% de los casos de envenenamiento ofídico (Ministerio de Saude, 1999; Araujo y cols, 2003). En Colombia, cada año se reportan 2000 a 3000 mordeduras, de las cuales 90 - 95% son causadas por éstas (Pineda y col., 2002) y en general, en Centroamérica son las responsables de la mayoría de los accidentes (Rojas y cols, 1997; Russell y cols, 1997; Sasa y Vázquez, 2003).

Venezuela, por ser un país tropical y poseedor de una rica herpetofauna, distribuida en todas las regiones de la nación, con un importante número de serpientes venenosas, que para el año 2005 causaron 4.230 casos de accidentes ofídicos y una mortalidad cercana al 2% según datos obtenidos del Centro Nacional de Estadística del Ministerio de Salud (MPPS, 2005). Debido a que las condiciones socioeconómicas en nuestro país son deficientes, los datos epidemiológicos que se obtienen sobre el ofidismo no escapan de ser escasos e incompletos, de manera que la magnitud real del problema es muy difícil de determinar.

Para el periodo 1980 – 1990, el número de defunciones por accidentes ofídicos fue de 586, ocupando el primer lugar de mortalidad (66,8%) por envenenamientos causados por plantas y animales. En el estado Monagas desde 1980–2000 se registraron 20 decesos por mordeduras de serpientes (42,6 %), 16 de estas muertes ocurrieron en hombres y en mayores de 60 años (De Sousa y col., 2005). En el Hospital Universitario de Los Andes - Mérida, para el lapso de 1990-1998, se reportaron 115 casos de envenenamiento ofídico, de los cuales 75,7% ocurrió en el género masculino, aquellos con edades comprendidas entre 45 – 64 años resultaron los más afectados, encontrándose un aumento de 75% entre los años iniciales y finales del estudio, siendo el género *Bothrops* el implicado en el 99,1% de los casos. Con respecto a la ubicación anatómica de la mordedura, un 73,9% se localizó en miembros inferiores (Araujo y Rivas, 1999). En el estado Bolívar, desde Enero 2003 hasta Diciembre del 2004, fueron registrados 85 casos, el género masculino resultó afectado en un 74,1%, con un rango de edad 21 y 60 años (55,9%) y 67% de estos casos fueron provocados por serpientes del género *Bothrops* (Rivero y col., 2005). En el año 2000, ingresaron al Hospital Universitario de Caracas 17 niños por envenenamiento ofídico, 94,11% de ellos sufrieron el accidente cuando realizaban o acompañaban a sus padres en labores agrícolas, en 76,47% de los casos las responsables, al igual que en los estudios antes mencionados, fueron serpientes del

género *Bothrops*; 52,94% presentaron mordeduras en el área de los pies (Navarro y col., 2000) pudiendo observarse que la distribución de casos por edad, sexo y sitio de la lesión fueron consistentes entre sí y con otros estudios.

Anzoátegui, a pesar de no ser uno de los estados más afectados por el envenenamiento ofídico, posee una tasa de mordeduras importante, presentando para el quinquenio 2000-2004 un total de 916 casos con un promedio de 183 por año (MPPS, 2004); aquí el accidente crotálico es mucho más frecuente que el bothrópico, a diferencia de lo que ocurre en el resto del país, sin embargo, los casos más graves son los causados por envenenamiento bothrópico, provenientes en su mayoría de la región de Sabana de Uchire (Kiriakos, 1993).

El mayor número de accidentes ofídicos en nuestro estado prevaleció en el segundo semestre del año, coincidiendo con el periodo lluvioso, donde se observaron dos picos de mayor incidencia, los cuales, se presentaron uno entre Junio y Julio y el otro entre Octubre y Noviembre, lo que sería el inicio y el final del período. Las más afectadas son personas del género masculino y menores de 30 años, quienes con frecuencia, trabajan en el área rural. La mayor incidencia, con respecto al momento del día durante el que ocurrió el envenenamiento, se observó entre las 8:00 am y 10:00 am, momento en que la actividad agrícola es mayor y por ende aumenta la interacción entre humanos y serpientes, y otro pico (mayor que el anterior) entre las 5:00 pm y 8:00 pm, que representa el período de actividad propio de la serpiente. Estas serpientes, por lo general, son cazadores pasivos que esperan a su presa agazapadas y camufladas con su ambiente por lo que son difíciles de ver y las personas las pisan o acercan sus manos inadvertidamente ocurriendo el accidente. Esto explica el hecho de que el mayor número de mordeduras por serpiente afecten pies y piernas en primer lugar y manos en segundo lugar (Kiriakos, 1993).

En un estudio realizado en el Hospital Universitario de Los Andes, en el estado Mérida, se encontró que las principales manifestaciones clínicas fueron edema duro y eritematoso en el sitio de la lesión y en áreas adyacentes en aproximadamente un 90% de los pacientes, dolor de carácter urente (63,5%), equimosis (56,1%), necrosis de tejidos blandos (16,5%), cianosis y limitación funcional del miembro afectado (19,1%); se evidenció además salida de sangre incoagulada a través de los orificios de inoculación, flictenas hematuria y prolongación de los tiempos de coagulación (Araujo y Rivas, 1999). Estas manifestaciones coinciden con otros estudios realizados en el país (Rodríguez – Acosta y col., 2000; Rivero y col., 2005) y en el exterior (Kamiguti y col., 1996; Acosta y col., 1997)

Los accidentes botrópicos representan en nuestro país alrededor del 70% de los envenenamientos por mordedura de serpientes, esto debido a su amplia distribución en el territorio nacional, su agilidad y a la toxicidad de su veneno; seguidos por los accidentes crotálicos y otros, siendo la serpiente predominante *Bothrops colombiensis* (Pifano y Rodríguez - Acosta, 1989).

Los venenos de serpientes dan pie a múltiples investigaciones, debido a los efectos patológicos que éstos producen en el ser humano (Bolaños, 1984; Lomonte, 1994). Son secreciones de naturaleza sero–mucosa o saliva modificada, como también se le considerada, constituidas por elementos proteicos entre los cuales se encuentran la fosfolipasa A₂, fosfatasa, acetilcolinesterasa, hialuronidasa, enzimas proteicas y coagulantes, como la enzima semejante a la trombina y toxinas de gran importancia, como las neurotoxinas, cardiotoxinas y citotoxinas. Dentro de los elementos no proteicos es importante mencionar las aminas biogénicas, entre ellas la histamina, bradicinina, serotonina y acetilcolina (Angel, 1989; Pineda y col., 2002). Las proteínas y péptidos representan el 90% – 95% del peso seco del veneno

(Rodríguez – Acosta, 1998). El catión predominante es el sodio, cuyo efecto aún no se conoce con exactitud. El zinc y el calcio están presentes en muchas de las metaloproteasas. La representación de los carbohidratos está dada por las glicoproteínas (Markland, 1998).

Cabe destacar que no todas las enzimas ni toxinas están presentes en todos los venenos (Markland, 1998), teniendo así que el veneno crotálico es principalmente neurotóxico y rabiomiolítico, el lachésico es necrotizante, procoagulante y moderadamente neurotóxico, el veneno micrurus es neurotóxico y levemente miotóxico y el veneno bothrópico posee gran poder procoagulante y necrotizante, con ninguna acción neurotóxica (Colimodio y Aguilar, 1993).

La severidad de la lesión está determinada por el volumen de veneno inyectado, pero en el caso de accidentes ofídicos por el género *Bothrops*, siempre se presenta necrosis de tejidos blandos (Toro y cols, 1983). La cantidad de veneno inyectada está directamente relacionada con el tamaño de la serpiente y con el hecho de si ha mordido recientemente (Filho, 1997)

La venina inyectada por *Bothrops* es una mezcla compleja de elementos enzimáticos y no enzimáticos, como la batroxobina, reptilasa, proteinasas y particularmente, la enzima semejante a la trombina y fosfolipasa A₂ (Gutierrez y col., 1990; Kamiguti y col., 1991; Zaganelli y col., 1996) con actividad proteolítica, procoagulante, hemorrágica y miotóxica que actúan sobre los tejidos desencadenando cuadros graves de necrosis tisular, trastornos de la coagulación y daño endotelial (Rodríguez – Acosta y col., 1995).

La interacción entre los componentes biológicamente activos del veneno, como son las proteínas y los péptidos y los elementos del sistema hemostático humano producen alteraciones de la coagulación sanguínea, plaquetas y células endoteliales siendo la hemotoxina más importante la enzima tipo trombina, responsable en gran medida de la coagulopatía por consumo, no obstante, se han descrito varias otras enzimas y mecanismos por los cuales se ve alterada la coagulación sanguínea, las plaquetas y el endotelio vascular (Markland, 1998).

Además de las variaciones interespecíficas de los venenos, las serpientes muestran variaciones intraespecíficas en la potencia y en las actividades de sus venenos. Entre los factores que determinan estas variaciones está la edad de la serpiente siendo el veneno de los juveniles, en general, más potente que el de los adultos (Furtado y col., 1991; Málaga y col., 2000; Gutierrez y Sasa, 2002). Siendo *Bothrops colombiensis*, la mapanare más frecuente en el norte de nuestro país, resulta indispensable conocer si estas variaciones ontogénicas también ocurren en esta especie. Es por eso que nos planteamos esta investigación con el fin de responder las siguientes interrogantes: ¿Es el veneno de los ejemplares juveniles de *B. colombiensis* más potente que el de sus progenitores? ¿Hay relación entre la actividad biológica de los venenos y la posible variación en su potencia?

OBJETIVOS

GENERAL:

- Estudiar los efectos biológicos y la dosis letal 50 (DL₅₀) del veneno de una hembra adulta de *Bothrops colombiensis* y de sus crías en el modelo múrido C57bl/6.

Específicos

- Calcular la DL₅₀ del veneno de la hembra adulta de *Bothrops colombiensis* y de sus crías, en el modelo múrido C57bl/6, por vía intraperitoneal y para una hora de observación.
- Determinar los efectos procoagulantes sobre el plasma humano de venenos de ejemplares adultos y juveniles de *Bothrops colombiensis*.
- Identificar las manifestaciones clínicas inducidas por la inyección intraperitoneal del veneno de ejemplares adultos y juveniles de *Bothrops colombiensis* en ratones C57bl/ 6.

JUSTIFICACIÓN

En el laboratorio del Centro de Investigaciones en Ciencias de la Salud (CICS) de la Universidad de Oriente, se han realizado varios experimentos comparando la potencia del veneno, según el estadio ontogénico, de por lo menos tres especies de *Crotalus* y dos de *Bothrops* (Blanco y Rojas, 2005; Baldi y Chalhoub, 2007; Valerio, 2007; Acosta, Cayamo y Graziani, 2008; Astudillo y Bejarano, 2008) encontrándose que el veneno de las juveniles fue más letal, coincidiendo esto con un efecto procoagulante más intenso. Sin embargo, en el estudio realizado por Astudillo y Bejarano (2008) se observó que no hubo variación significativa ni en la potencia ni en el efecto procoagulante del veneno de especímenes adultos y juveniles de *Bothrops colombiensis*, lo que hizo pensar que podría existir variabilidad geográfica intraespecífica, puesto que las mapanaras adultas de las cuales se obtuvo el pool de veneno procedían de distintas áreas geográficas del país y que la mezcla de éstos podrían promediar el de los juveniles utilizados, que provenían de una misma localidad. Dicha variabilidad geográfica fue confirmada por Ruiz y Ruiz (2009) al comparar el veneno de cuatro ejemplares adultas de *Bothrops colombiensis* provenientes de Barinas, Yaracuy y Miranda.

Considerando lo anterior, se decide comparar el veneno de las crías de *B. colombiensis* con el de la madre, con el objeto de ver si existen diferencias relevantes que avalen o difieran de lo antes expuesto y completar, de este modo, la información al respecto.

METODOLOGÍA

Tipo de Investigación

La presente investigación fue de tipo experimental y comparativa. En este trabajo se compararon y describieron algunos efectos biológicos inducidos por el veneno de una hembra adulta de *Bothrops colombiensis* y sus crías en el múrido C57bl/6 por vía intraperitoneal y para una hora de observación.

Variables

Independientes: El veneno de los ejemplares adultos y juveniles de *Bothrops colombiensis*.

Dependientes: La reacción del plasma sanguíneo humano ante el veneno de *B. colombiensis*.

La evolución clínica de la toxicidad aguda en el modelo múrido C57bl/6.

Materiales

- Veneno de los *Bothrops colombiensis* (Hembra adulta y sus crías).
- Ratones negros homocigotos de la cepa C57bl/6.
- Plasma humano.

- Cristalería de laboratorio (microjeringas de 50 microlitros de capacidad, vasos de precipitado, tubos de ensayo, micropipetas graduadas de volumen variable, jeringas de 10 y 20cc, piceta plástica, microgoteros, tubos Eppendorf[®])
- Liofilizador Labconco[®], modelo Freezone 4.5.
- Balanza analítica Sartorius[®], modelo Handy.
- Balanza digital Denver Instrument[®], modelo XS-300.D
- Cloroformo.
- Anticoagulante: citrato de sodio
- Centrífuga.
- Solución salina (0,9%).
- Baño de maría.
- Papel parafilm[®]
- Refrigerador marca Whirpool de -20°C
- Gancho para serpientes
- Agua destilada
- Trombo Hacina C Plus[®], de laboratorios Dade.

Procedimiento

- **Extracción del Veneno**

Para la obtención del veneno, se procedió a ordeñar a cada ejemplar de *Bothrops colombiensis* en el serpentario de la Universidad de Oriente. Las serpientes fueron extraídas de su terrario con un gancho cuya punta es en forma de “S”. Se tomó al animal disponiendo el dedo pulgar en un lado, el índice sobre la cabeza y el dedo medio del otro lado de la cabeza; de ésta forma se evitó que la víbora girara y mordiera. Se tomó un vaso de precipitado de 50 o 150 mL de capacidad, cubierto previamente con Parafilm[®], adherido a la boca del vaso. Seguidamente, se acercó la cabeza de la serpiente a la boca del vaso, de manera que ésta mordió el plástico mientras se realizaba masaje sobre las glándulas productoras de veneno, dejando así en el recipiente una pequeña cantidad del mismo. El veneno extraído fue colocado en vasos de precipitado, lo más pequeños posibles (20 – 50 cc), y se refrigeró. Posteriormente, el veneno se desecó al frío (Liofilizador Labconco[®]) y antes de ser utilizado, fue pesada una fracción en una balanza analítica (Sartorius[®]) y se reconstituyó en solución salina (0,9%), de donde se tomaron las dosis que fueron inyectadas en los ratones.

- **Determinación de la dosis letal 50**

La DL_{50} del veneno de *Bothrops colombiensis* fue determinada por el método secuencial de Dixon y Mood (1948) modificado por Sevcik (1987). El veneno se inyectó con una microjeringa de 50 microlitros (Hamilton[®]) por vía intraperitoneal (VIP) en ratones C57bl/6 hembras, previamente pesados en balanza digital (Denver Instrument[®], modelo XS – 300 D). Para dar inicio al experimento, se administró al primer ratón el anti – log de una dosis inicial X_1 , arbitraria y modificada por un factor

arbitrario constante ($d= 0,05$) y se procedió a observar la respuesta en un tiempo definido de observación (una hora).

Si el primer ratón respondió con la muerte, el segundo recibió un anti-log de la dosis X_2 , donde $X_2 = X_1 - d$. Si por el contrario el primer ratón sobrevivió, al segundo se le administró un anti - log de la dosis X_2 , siendo $X_2 = \text{anti} - \log (X_1 + d)$. Se continuó con el experimento hasta encontrar el primer fenómeno vida - muerte o muerte - vida, que sería el punto de inflexión a partir del cual inició la corrida válida para el experimento. La dosis que recibieron los mures siguientes fueron el anti - log de $X_m - d$ si el ratón "m" murió con la dosis anti - log X_m o bien, anti - log $X_m + d$ si el ratón "m" sobrevivió a la dosis anti - log X_m . El muestreo se detuvo al obtener una secuencia similar a †0†0†0†0†* ó 0†0†0†0†*, donde la cruz (†) indicó muerte, cero (0) indicó sobrevivencia y asterisco (*), la dosis que debió administrarse al siguiente ratón. Se consideró completa la corrida válida al obtener cuatro ciclos de muerte - no muerte.

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

Las manifestaciones clínicas inducidas por la inyección intraperitoneal del veneno de los ejemplares de *Bothrops colombiensis* en mures C57bl/6, se observaron durante una hora de experimentación y se registraron cronológicamente en un formato preexistente (Anexo 1). Se usó también un ratón control al que se le administró 50 microlitros de solución salina al 0,9%.

La determinación del efecto procoagulante en ambos estadios ontogénicos no pudo ser realizada, debido a que fue necesaria la inyección de gran número de ratones para el cálculo de la DL_{50} del veneno de las crías, lo que requirió el uso de poco menos de la totalidad del veneno, valga la redundancia, obtenido; siendo imposible realizar otras extracciones debido a que los ejemplares con los que contábamos (crías) fallecieron antes de la culminación de este trabajo de investigación.

- **Procesamiento de los datos.**

Se utilizó el programa Excel V – 5.1 (Microsoft Corporation, 2003) para automatizar los cálculos y elaborar la gráfica de la DL_{50} .

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

Se calcularon las medianas según Hodges y Lehman y sus límites de confianza al 95%.

Las diferencias entre los cálculos de la DL_{50} , de adultos y juveniles fueron probadas por la técnica de análisis de variancia de Kruskal – Wallis. Se tomó un nivel de significancia $p < 0,05$.

Para el procesamiento de los datos por el método estadístico no paramétrico se utilizó el programa V- 8.2 (Sevcik, 1987) Laboratorio de Neurofarmacología Celular, Centro de Biofísica y Bioquímica, IVIC, Miranda.

RESULTADOS

En la tabla 1 se presentan los datos necesarios para el cálculo de la DL_{50} del veneno del ejemplar adulto de *Bothrops colombiensis*, en ratones C57bl/6 hembra, inyectados por VIP y observados durante 60 minutos.

El total de ratones utilizados para la determinación de la DL_{50} del ejemplar adulto fue de $n = 16$, con pesos comprendidos entre 20,58 y 26,74 g. El punto de inflexión se ubicó en R_2 , a partir de este punto se consideró la corrida válida para la determinación de la DL_{50} ; ésta comprendió desde R_2 hasta $R_{16} + R_{17}$ (punto final). La cantidad de veneno utilizado fue de 5271,6 μg (Tabla 1).

La DL_{50} , del veneno del ejemplar adulto de *Bothrops colombiensis* en ratones C57bl/6 hembra, inyectados por VIP y para 60 minutos de observación, se presenta en la gráfica 1, donde se observa una mediana de 15,85 (14,99 -15,95) mg/kg de ratón con un índice de variabilidad de 6,1%.

En la tabla 2 se muestra la frecuencia de muerte causada por la administración del veneno en estos ratones. La mayor frecuencia de muerte, fue de 42,86% ($n = 3$) y se observó con las dosis C y D (15,85 $\mu\text{g}/\text{g}^{-1}$ y 17,78 $\mu\text{g}/\text{g}^{-1}$) respectivamente. Con la dosis B (14,13 $\mu\text{g}/\text{g}$) la frecuencia fue de 14,29 % ($n = 1$). Todos los ratones sobrevivieron al aplicar la dosis A (12,58 $\mu\text{g}/\text{g}^{-1}$).

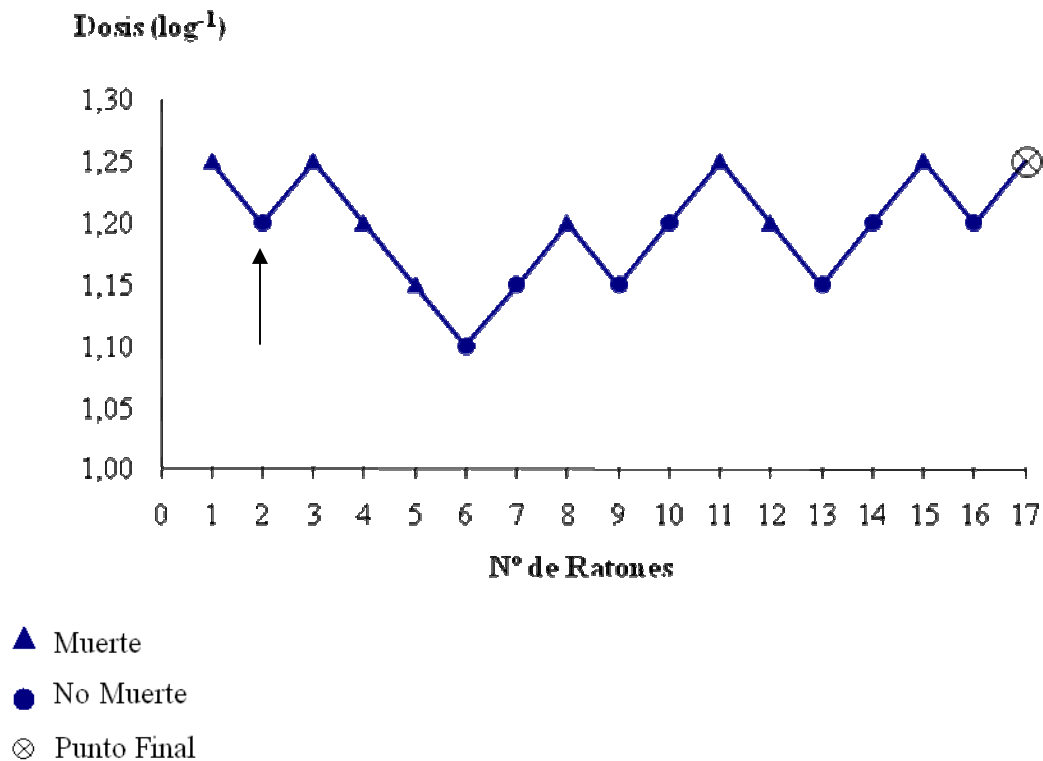
Tabla 1. Datos para el cálculo de la Dosis Letal (DL_{50}) del veneno del ejemplar adulto de *Bothrops colombiensis* en ratones C57bl/6 (\varnothing), administrado por VIP para 60 minutos de observación.

Ratón (n)	Peso (g)	Dosis (anti-log)	Dosis ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	Dosis total (μg)	Muerte (Min)
Corrida no válida					
1	21,95	1,25	17,78	390,27	† :34
Corrida válida					
2	21,65	1,20	15,85	343,15	-
3	22,00	1,25	17,78	391,16	† :42
4	20,95	1,20	15,85	332,06	† :42
5	21,70	1,15	14,13	306,62	† :45
6	20,58	1,10	12,58	258,90	-
7	23,95	1,15	14,13	338,41	-
8	21,56	1,20	15,85	341,73	† :51
9	24,45	1,15	14,13	345,48	-
10	23,24	1,20	15,85	368,35	-
11	22,50	1,25	17,78	400,05	† :56
12	23,26	1,20	15,85	368,67	† :29
13	26,74	1,15	14,13	377,84	-
14	21,07	1,20	15,85	333,96	-
15	22,15	1,25	17,78	393,83	† :36
16	23,43	1,20	15,85	371,37	-
17					⊗
	\bar{X} 22,62		\bar{X} 15,56	Σ 5271,6	\bar{X} 43

Ratones válidos: R2 → R16+ R17

†: Muerte; ⊗ Punto final; \bar{X} Promedio; Σ Sumatoria

Gráfica 1. Dosis Letal 50 (DL₅₀) del veneno del ejemplar adulto de *Bothrops colombiensis* en ratones C57bl/6 (♀), administrado por VIP para 60 minutos de observación.



En la figura 1, se muestra la representación gráfica de los datos para el cálculo de la DL₅₀, del veneno del ejemplar adulto de *Bothrops colombiensis* en el modelo múrido C57bl/6 hembra, las cuales fueron inyectadas VIP y para 60 minutos de observación. La flecha indica el primer punto de inflexión (anti-log 1,20) e inicio de la corrida válida para el cálculo de la DL₅₀. El resultado se expresa como la mediana y sus límites de confianza al 95%. La DL₅₀ fue de 15,85 mg.K⁻¹ de ratón, con límites de confianza entre 14,99 y 15,95 mg.K⁻¹ de ratón. Se determinó el índice de variabilidad (IV= (Límite superior – Límite inferior/ Mediana) x100) el cual fue de 6,1%.

Tabla 2. Frecuencia de muerte inducida por el veneno del ejemplar adulto de *Bothrops colombiensis* en el modelo múrido C57bl/6 (♀) según la dosis administrada por VIP.

N de ratón	Anti-Log dosis (mg.kg ⁻¹ de ratón)			
	Dosis A	Dosis B	Dosis C	Dosis D
	12,58	14,13	15,85	17,78
	Corrida no válida			
1	-	-	-	0
	Corrida válida			
2	-	-	0	-
3	-	-	-	†: 42
4	-	-	†: 42	-
5	-	†: 45	-	-
6	0	-	-	-
7	-	0	-	-
8	-	-	†: 51	-
9	-	0	-	-
10	-	-	0	-
11	-	-	-	†: 56
12	-	-	†: 29	-
13	-	0	-	-
14	-	-	0	-
15	-	-	-	†: 36
16	-	-	0	-
	Punto Final			
17	-	-	-	⊗
Datos válidos	0	1	3	3
N= 7 [†]				
Fc de muerte	-	14,29	42,86	42,86
[†]= 100%				

†: Tiempo de muerte en minutos.

0: Supervivencia.

⊗: Punto final.

En la tabla 3 se presentan los datos para el cálculo de la DL_{50} del veneno de las crías de *Bothrops colombiensis*, en ratones C57bl/6 hembras, inyectados por VIP y observados durante 60 minutos.

El total de ratones utilizados para la determinación de la DL_{50} de este veneno fue de $n = 14$ con pesos comprendidos entre 21,18 y 26,36 g. El punto de inflexión se ubicó en R_5 . A partir de este punto se inició la corrida válida, ésta estuvo comprendida desde R_5 hasta $R_{14} + R_{15}$ (punto final). La cantidad de veneno utilizado fue de 6.693 μg (Tabla 3).

En la gráfica 2 se presenta la DL_{50} del veneno de las crías de *Bothrops colombiensis* administrado por vía intraperitoneal en ratones hembra de la cepa C57bl/6, para 60 minutos de observación, en ésta se evidencia una mediana de 28,37 (25,12 -31,62) mg/kg de ratón y un índice de variabilidad de 22,9%.

La frecuencia de muerte causada por la administración del veneno se presenta en la tabla 4. Con este veneno, se observó que la muerte de los ratones ocurrió con la administración de las dosis E (Anti – log. 1,40) y la dosis H (Anti – log. 1,55), obteniéndose, con cada una de ellas, una frecuencia de muerte de 50%. Cuando se aplicaron el resto de las dosis todos los ratones sobrevivieron.

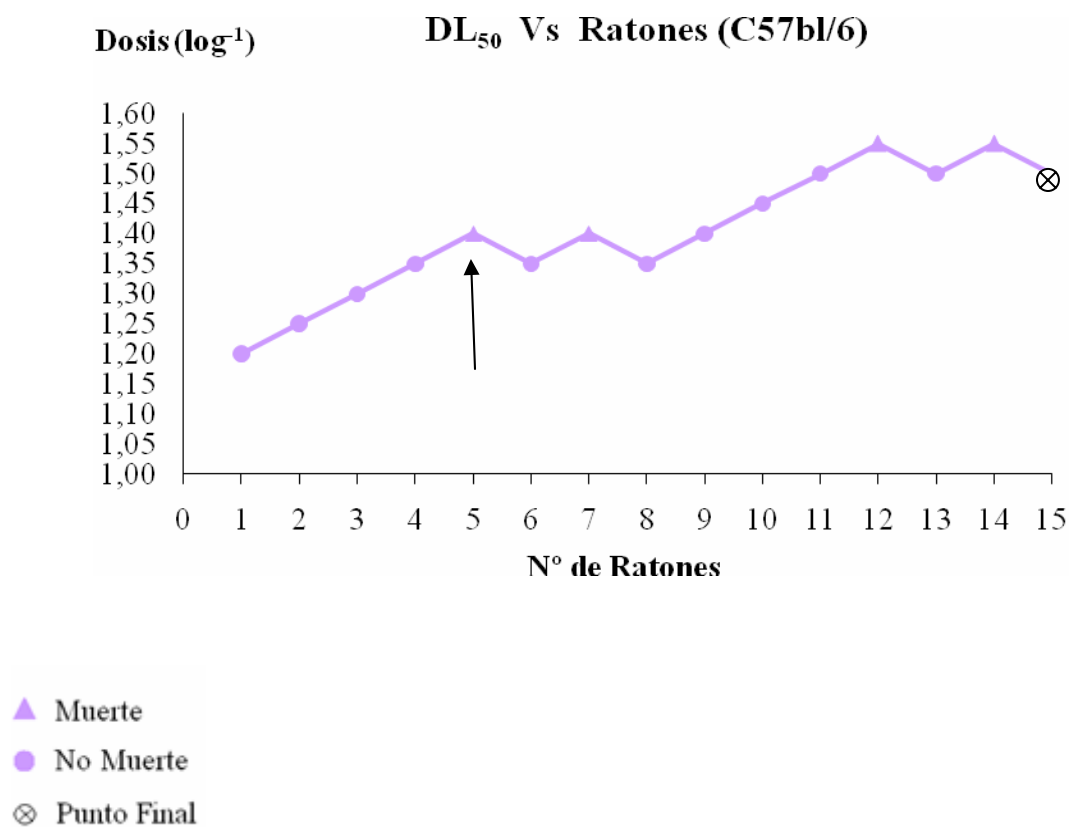
Tabla 3. Datos para el cálculo de la Dosis Letal (DL₅₀) del veneno de las crías de *Bothrops colombiensis* en ratones C57bl/6 (♀), administrado por VIP para 60 minutos de observación

Ratón (n)	Peso (g)	Dosis (anti-log)	Dosis ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	Dosis total (μg)	Muerte (Min)
Corrida no válida					
1	22,70	1,20	15,85	359,80	-
2	24,30	1,25	17,78	432,05	-
3	21,66	1,30	19,95	432,12	-
4	22,90	1,35	22,39	512,73	-
Corrida válida					
5	22,87	1,40	25,12	574,49	† :57
6	21,18	1,35	22,39	474,92	-
7	20,24	1,40	25,12	558,67	† :31
8	23,98	1,35	22,39	536,91	-
9	25,86	1,40	25,12	649,60	-
10	21,47	1,45	28,18	605,02	-
11	21,86	1,50	31,62	691,21	-
12	23,90	1,55	35,48	847,97	† :40
13	26,36	1,50	31,62	833,50	-
14	25,95	1,55	35,48	920,71	† :35
15					⊗
	\bar{X} 23,37		\bar{X} 28,25	Σ 6693	\bar{X} 40,75

Ratones válidos: R5 → R14+ R15

†: Muerte; ⊗ Punto final; \bar{X} Promedio; Σ Sumatoria

Gráfica 2. Dosis Letal (DL_{50}) del veneno de las crías de *Bothrops colombiensis* en ratones C57bl/6 (♀), administrado por VIP para 60 minutos de observación.



En la figura 2, se muestra la representación gráfica de los datos para el cálculo de la DL_{50} , del veneno de las crías de *Bothrops colombiensis* en el modelo murido C57bl/6 hembras, las cuales fueron inyectadas VIP y para 60 minutos de observación. La flecha indica el primer punto de inflexión (anti-log 1,40) e inicio de la corrida válida para el cálculo de la DL_{50} . El resultado se expresa como la mediana y sus límites de confianza al 95%. La DL_{50} , fue de 28,37 mg.K⁻¹ de ratón, con límites de confianza entre 25,12 y 31,62 mg.K⁻¹ de ratón. El índice de variabilidad (IV= (Límite superior – Límite inferior/ Mediana) x100) fue de 22,9%.

Tabla 4. Frecuencia de muerte inducida por el veneno de las crías de *Bothrops colombiensis* en el modelo múrido C57bl/6 (♀) según la dosis administrada por VIP, para 60 minutos de observación.

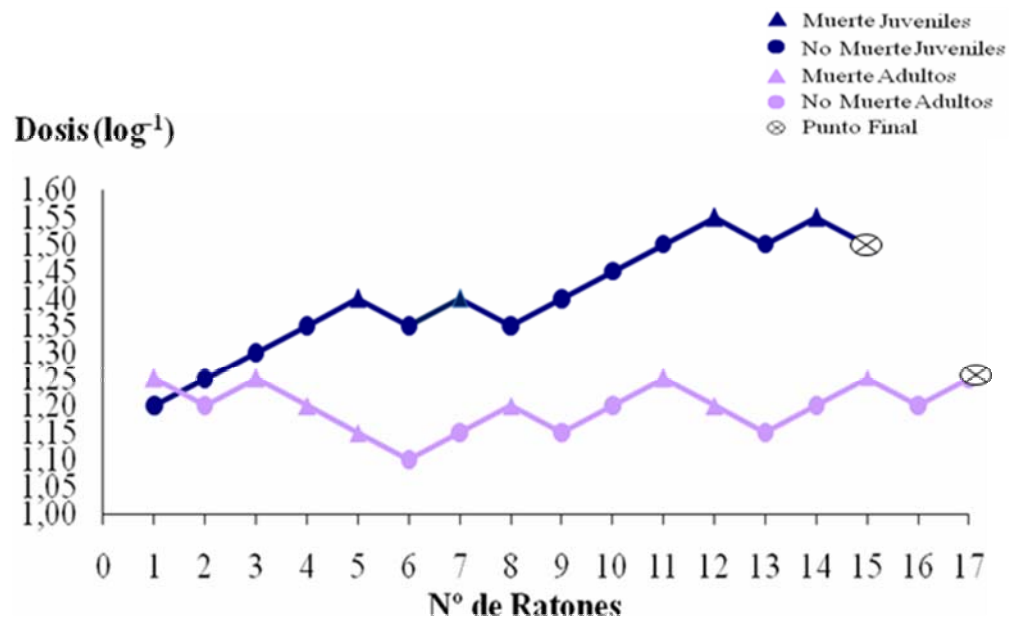
Nº de ratón	Anti-Log dosis (mg·kg ⁻¹ de ratón)							
	Dosis A 1,20	Dosis B 1,25	Dosis C 1,30	Dosis D 1,35	Dosis E 1,40	Dosis F 1,45	Dosis G 1,50	Dosis H 1,55
Corrida no válida								
1	0	-	-	-	-	-	-	-
2	-	0	-	-	-	-	-	-
3	-	-	0	-	-	-	-	-
4	-	-	-	0	-	-	-	-
Corrida Válida								
5	-	-	-	-	† :57	-	-	-
6	-	-	-	0	-	-	-	-
7	-	-	-	-	† :31	-	-	-
8	-	-	-	0	-	-	-	-
9	-	-	-	-	0	-	-	-
10	-	-	-	-	-	0	-	-
11	-	-	-	-	-	-	0	-
12	-	-	-	-	-	-	-	† :40
13	-	-	-	-	-	-	0	-
14	-	-	-	-	-	-	-	† :35
Punto final								
15	-	-	-	-	-	-	⊗	-
Datos validos n=4 [†]	0	0	0	0	2	0	0	2
Frecuencia de muerte [†]=100%	0	0	0	0	50	0	0	50

†= Indica tiempo de muerte en minutos.

0: Indica sobrevivencia.

⊗ = Indica punto final

Gráfica 3. Comparación de las Dosis Letales 50 (DL₅₀) del veneno del ejemplar adulto y de las crías de *Bothrops colombiensis* en ratones C57bl/6 (♀), administrado por VIP para 60 minutos de observación.



Al comparar los resultados de las DL₅₀ obtenidas para el veneno del ejemplar adulto y las crías de *Bothrops colombiensis*, sobre las hembras C57bl/6, administrado por VIP para 60 minutos de observación, se evidenció una potencia significativamente mayor ($p=0,000001$) para el veneno del ejemplar adulto.

Tabla 5. Signos clínicos de toxicidad observados en ratones C57bl/6, en un lapso de 60 minutos, posterior a la administración intraperitoneal del veneno del ejemplar adulto de *Bothrops colombiensis*.

Signos Clínicos	Tiempo (Minutos)	% Aparición
Taquipnea	1 – 5	100
Hipoactividad	3 – 10	100
Postración	27 – 40	100
Períodos de apnea	14 – 53	68,75
Posición antálgica	1 – 5	50
Muerte	29 – 56	50
Movimientos inefectivos	20 – 40	43,75
Respiración abdominal forzada	11 – 50	43,75
Cianosis Peribucal	27 – 50	43,75
Extensión del tren posterior	25 – 40	31,25
Respiración oral	27 – 40	31,25

Las manifestaciones de toxicidad aguda observadas con mayor frecuencia tras la administración del veneno del ejemplar adulto de *Bothrops colombiensis*, en múridos C57bl/6, para 60 minutos de observación fueron taquipnea, hipoactividad, postración, períodos de apnea, posición antálgica y muerte, notándose así que la taquipnea, posición antálgica e hipoactividad aparecieron en un breve período de tiempo, posterior a la inyección del veneno; se presentaron otros signos clínicos como respiración abdominal forzada, cianosis peribucal, movimientos inefectivos, movimientos de extensión del tren posterior y respiración oral pero con menor frecuencia.

Tabla 6. Signos clínicos de toxicidad observados en ratones C57bl/6, en un lapso de 60 minutos, posterior a la administración intraperitoneal del veneno de las crías de *Bothrops colombiensis*.

Signos Clínicos	Tiempo (Min)	% Aparición
Taquipnea	1 – 3	100
Hipoactividad	2 – 14	100
Postración	7 – 20	100
Posición antálgica	1 – 8	92,86
Movimientos inefectivos	10 – 49	35,71
Muerte	31 – 57	28,57
Períodos de apnea	20 – 51	28,57
Extensión del tren posterior	30 – 56	28,57

Los principales signos clínicos evidenciados, posterior a la inyección del veneno de las crías de *Bothrops colombiensis*, en múridos C57bl/6, en 60 minutos de observación fueron taquipnea, hipoactividad, postración y posición antálgica, apareciendo antes de los 20 minutos de observación; otros signos clínicos observados fueron movimientos inefectivos, períodos de apnea, movimientos de extensión del tren posterior y muerte, cabe destacar que estos se presentaron a mayor tiempo de observación. Las crías de *B. colombiensis* fueron muriendo progresivamente durante la realización de ésta investigación, por lo que limitó el uso del veneno obtenido para el cálculo de las DL_{50} , y por no contar con suficiente cantidad del mismo, no se llevaron a cabo los experimentos de actividades biológicas.

DISCUSION

El envenenamiento ofídico sigue representando un grave problema médico, social y económico en Venezuela, particularmente en las áreas rurales. Según el MPPS, en el período 2001 – 2003, se registraron 16.764 casos en todo el país, de los cuales 492 ocurrieron en el estado Anzoátegui. Las serpientes involucradas en la mayoría de estos casos pertenecían a la familia Viperidae, siendo el género *Bothrops* el responsable del mayor número de muertes ocurridas en nuestro estado y en el país en general (MPPS, 2005; Costa Cardoso y Fan, 1995; Rodríguez – Acosta y González, 2004).

Para estandarizar la letalidad de los venenos y antivenenos de origen natural, es necesario el cálculo de la Dosis Letal 50 (DL₅₀), que no es más que la cantidad requerida de una droga o toxina que es capaz de producir la muerte en el 50% de una población de animales experimentales, en un tiempo determinado (Ross,1996).

La mayoría de las especies de víboras exhiben diferencias ontogénicas en la potencia de sus venenos, tales diferencias son frecuentes, asociadas con el tipo de presa y según el estadio ontogénico. El veneno de juveniles de *Crotalus willardi obscurus*, fue significativamente más tóxico en lagartos que el de ejemplares adultos, el cual resultó 3 veces menos letal que el de los juveniles cuando se compararon las DL₅₀ (Holycross y col., 2002). Gutierrez y col. (1990), compararon la cantidad de crotoxinas presentes en veneno de adultos y juveniles de *Crotalus simus*, en Costa Rica, y encontraron que ésta fue mucho mayor en el veneno de los juveniles, siendo mucho más letal para los roedores que el veneno de ejemplares adultos.

Se han observado variaciones ontogénicas en la letalidad del veneno de *Bothrops atrox*. Las serpientes recién nacidas poseen un veneno más letal (DL₅₀ 51,8 mg) en comparación con los adultos (DL₅₀ 81,4 mg) (Otero y col, 2000). En otro estudio, el veneno de las juveniles de *Bothrops jararaca* resultó más tóxico que el de los adultos, en presas de sangre fría; por el contrario, el veneno de los adultos fue más tóxico en presas de sangre caliente que el de juveniles (Andrade y Abe, 1999).

En el Centro de Investigaciones en Ciencias de la Salud (CICS), de la Universidad de Oriente, Núcleo de Anzoátegui se han realizado investigaciones previas, en las que comparan el veneno de ejemplares adultos y juveniles de varias especies de víboras. Blanco y Rojas (2005), estudiaron el veneno de *Bothrops venezuelensis*, en la cepa de ratones C57bl/6, hembras homocigotas, demostrando que el veneno de los juveniles fue significativamente más potente que el de las adultas. En un estudio similar, realizado con veneno de *Crotalus durissus cumanensis* hubo resultados parecidos, el veneno de las serpientes adultas fue menos potente que el de juveniles (Baldi y Chalhoub, 2007). De igual forma, se observó que en *C. durissus pifanorum* y *C. durissus vegradis*, el veneno de los juveniles fue siempre más letal que el de los adultos (Valerio, 2007; Acosta, Cayamo y Graziani, 2008). Astudillo y Bejarano (2008), al comparar ontogénicamente, las DL₅₀ del veneno de *Bothrops colombiensis*, no encontraron diferencias significativas en cuanto a la letalidad del veneno, lo que hizo pensar en la posibilidad de variabilidad intraespecífica, puesto que las mapanares adultas de las cuales se obtuvo el pool de veneno, procedían de distintas áreas geográficas del país y que la mezcla de éstos podrían promediar el de los juveniles utilizados, que eran todos de la misma localidad. Dicha variabilidad geográfica fue confirmada por Ruiz y Ruiz (2009) al comparar ejemplares de *Bothrops colombiensis*, provenientes de distintas zonas del país.

A diferencia de las investigaciones antes mencionadas, en el presente estudio se observó diferencias significativas ($p=0,000001$) al comparar el veneno de un ejemplar adulto de *Bothrops colombiensis* con el de sus crías, siendo la DL_{50} del ejemplar adulto ($15,85 \text{ mg.K}^{-1}$) significativamente menor al de las crías ($28,37 \text{ mg.K}^{-1}$), evidenciándose así, la menor toxicidad del veneno de las crías; hecho éste, que podría correlacionarse con los resultados obtenidos por Astudillo y Bejarano (2008).

Los signos de toxicidad aguda fueron observados durante 60 minutos, después de la inyección intraperitoneal del veneno de la madre y sus crías de *Bothrops colombiensis*, predominando la taquipnea, hipoactividad, postración, movimientos inefectivos y posición antálgica; efectos éstos que podrían ser explicados por la acción coagulante y proteolítica del mismo.

Entre otros signos, menos frecuentes, se pudieron observar pausas respiratorias, movimientos de extensión del tren posterior, respiración oral, cianosis peribucal y respiración abdominal forzada. El tiempo de aparición de las manifestaciones clínicas fue paulatino y variable pero, en general, no hubo mayores diferencias entre los dos estadios ontogénicos. Estos resultados corresponderían con los observados por Blanco y Rojas (2005) quienes evidenciaron que el 100% de los ratones de la cepa C57bl/6, que fueron inyectados por VIP con veneno de *Bothrops venezuelensis* adultas y juveniles, presentaron hipoactividad, debilidad muscular, hiperextensión de la cola, marcha atáxica y alteraciones de la respiración caracterizadas por períodos de apnea.

Las semejanzas de las manifestaciones clínicas sugieren que ambos estadios ontogénicos presentan composiciones químicas similares en sus venenos y que las diferencias en las DL_{50} se fundamentarían más bien en la concentración diferente de alguno de sus componentes.

Las actividades hemorrágicas de serpientes suramericanas existen, casi exclusivamente en los venenos botrópicos y lachésicos. No obstante, se han descrito estas actividades en algunas especies de crótalos venezolanos (Rodríguez – Acosta, 1998; Aguilar y col., 2001). A pesar de no haber cumplido con el objetivo de comparar el efecto procoagulante del veneno de ambos estadios ontogénicos, este hecho no invalida el presente trabajo, debido a que dicha actividad ha sido ampliamente estudiada en investigaciones previas, donde se realizaron estudios comparativos con el veneno de juveniles y adultos, como las llevadas a cabo por López y Lozano (2002), quienes trabajaron con el veneno de *Bothrops atrox* y observaron que la actividad coagulante del plasma fue mayor al ser inducida por el veneno de juveniles que por el veneno de adultos.

En otro estudio, en el que se utilizó veneno de *Bothrops venezuelensis*, las diferencias entre las distintas velocidades a las que coaguló el plasma con el veneno de adultos y juveniles indicó que en el caso de las juveniles fue un poco más coagulante que el de los adultos (Blanco y Rojas, 2005). Por otro lado, Furtado y col. (1991), estudiaron los venenos de siete subespecies de *Bothrops*, donde encontraron variaciones en el contenido de proteínas, toxinas y actividad fibrinolítica y trombótica, notando también que la actividad procoagulante del veneno de juveniles, en comparación con los adultos, fue siempre mayor. Resultados similares se encontraron en investigaciones realizadas con venenos de las subespecies *C. d. vegrandis*, *C. d.*

cumanensis y *C. d. pifanorum*, los cuales reiteran que el efecto coagulante del plasma fue más potente en los juveniles (Valerio, 2007; Baldi y Chalhoub, 2007; Acosta, Cayamo y Graziani, 2008). En todos estos estudios, el veneno con mayor acción procoagulante (el de los juveniles) fue siempre el más tóxico, por lo que queda claro que éste es uno de los efectos biológicos más relacionados a la potencia del veneno.

Por el contrario, en un trabajo realizado con veneno de adultos y juveniles de *Bothrops colombiensis*, no se evidenciaron diferencias significativas en cuanto al efecto procoagulante, y en consecuencia, no hubo diferencias en las DL₅₀ (Astudillo y Bejarano, 2008). La actividad del veneno en la coagulación de la sangre está dada, principalmente, por la acción procoagulante que éste ejerce sobre el plasma sanguíneo al actuar sobre el factor I y X de la coagulación.

Con respecto a los efectos proteolíticos del veneno de *Bothrops colombiensis*, en otras investigaciones se ha demostrado que éste se encuentra directamente relacionado con la edad de la serpiente, siendo mayor en ejemplares adultos (Astudillo y Bejarano, 2008). Resultados que coinciden con los hallados al estudiar el veneno de *Bothrops atrox* y *Bothrops venezuelensis* (Málaga y col., 2000; Blanco y Rojas, 2005) y otras subespecies de la familia Crotalidae, descritos por Valerio (2007), Baldi y Chalhoub (2007), Acosta, Cayamo y Graziani (2008) en *C. d. vegrandis*, *C. d. cumanensis* y *C. d. pifanorum*, respectivamente. Cabe destacar que la letalidad del veneno de *Bothrops colombiensis* depende principalmente de su acción hemotóxica, no estando relacionada con los efectos proteolíticos del mismo.

CONCLUSIONES

- La DL_{50} del ejemplar adulto fue de $15,85 \text{ mg.K}^{-1}$ y la de los juveniles de $28,37 \text{ mg.K}^{-1}$.
- Existen diferencias significativas en la potencia del veneno de *Bothrops colombiensis* con relación a sus estadios ontogénicos, siendo el de las crías menos potente que el veneno de la madre.
- El tiempo de muerte en los ratones C57bl/6 inyectados con el veneno de las crías es muy cercano al tiempo de muerte de los inyectados con el veneno de la madre.
- En el modelo múrido C57bl/6, inyectados vip con el veneno de *Bothrops colombiensis*, las manifestaciones de toxicidad aguda fueron similares en ambos estadios ontogénicos.

RECOMENDACIONES

- Utilizar el método de Dixon y Mood (1948) modificado por Sevcik (1987) para el cálculo de la Dosis Letal Cincuenta, debido a que permite la utilización de un menor número de animales de experimentación, ahorro de material biológico y mayor facilidad para el análisis estadístico de los resultados.
- Completar esta investigación con el estudio comparativo de las distintas actividades biológicas de los venenos (proteolítica, procoagulante, hemorrágica, fosfolipasas, etc).
- Estudiar los diferentes componentes de los venenos de adultos y juveniles de las distintas especies encontradas en el territorio nacional, para precisar cual de ellos es el responsable de las variaciones encontradas a nivel ontogénico.
- Fomentar la producción de sueros antiofídicos con mayor especificidad y eficacia.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Acosta, L; Cayamo, Y y Graziani, D. Efectos biológicos y DL50 del veneno de *Crotalus durissus pifanorum*. Estudio comparativo entre ejemplares juveniles y adultos en el modelo múrido C57bl/6. Trabajo de Grado (no publicada). Barcelona, Venezuela: Universidad de Oriente; 2008.
2. Acosta, O; Murunak, S; Ruiz, R; Koscinczuk, P y Teibler, P. Haemorrhage induced by snake venoms in Argentina. *Acta Physiol. Pharmacol. Ther. LatinoAm* 1997; 47: 22122-4.
3. Andrade, D y Abe, A. Relationship of venom ontogeny and diet in *Bothrops*. *Herpetológica* 1999; 55 (2): 200-204.
4. Angel, R. Animales venenosos y sus venenos. *Act Med Col* 1989; 14:349
5. Araujo, A; Santalucia, M y Fernández, R. Epidemiología dos accidentes por animales peconhentos. 2003: 6-12. Costa Cardoso, J; De Siqueira Franca, F; Wen, F; Sant`Ana, C y Haadad, V. (eds). *Animais peconhentos no Brasil. Biología, clínica e terapéutica dos acidentes*. Sarvier, FAPESP, Sao Paulo, Brasil.
6. Araujo, S y Rivas, F. Emponzoñamiento ofídico en el instituto autónomo Hospital Universitario Los Andes, Mérida, Venezuela 1999.
7. Arellano, M. Ofidismo en Venezuela. Centro de Asesoramiento Toxicológico (CATOX). Valencia, Venezuela 1987.

8. Astudillo, Y y Bejarano, M. Efectos biológicos y DL50 del veneno de *Bothrops colombiensis* (Serpentes, Viperidae). Estudio comparativo entre ejemplares adultos y juveniles. Trabajo de Grado (no publicada) Barcelona, Venezuela: Universidad de Oriente; 2008.
9. Baldi, P y Chalhoub, Y. Efectos Biológicos y Dosis letal 50 del veneno de *Crotalus durissus cumanenses*; estudio comparativo entre ejemplares juveniles y adultos. Trabajo de Grado (no publicada) Barcelona, Venezuela: Universidad de Oriente; 2007.
10. Blanco, M y Rojas, A. Efectos biológicos del veneno de *Bothrops venezuelensis* (Serpiente tigre mariposa) juveniles y adultos. Trabajo de Grado (no publicada) Barcelona, Venezuela: Universidad de Oriente; 2005.
11. Bolaños, R. Serpientes, venenos y ofidismo en Centroamérica. Universidad de Costa Rica, San José; 1984. p. 136.
12. Campbell, J y Lamar, W. The venomous reptiles of de western hemisphere. Cornell University press, Ithaca, New York, 2004.
13. Chaves, F; Gutierrez, D; Lomonte, B y Cerdas, L. Histopathological and biochemical alterations induced by intramuscular injection of *Bothrops asper* (Terciopelo) venom in mice. *Toxicon* 1989; 27: 1085-1093.
14. Chippaux, J y Goyfon, M. Venoms, antivenoms and immunotherapy. *Toxicon* 1998; 36 (6): 823-846.
15. Colimodio, H y Aguilar, M. Envenenamiento ofídico en Venezuela. *Med Crít Venez* 1993; 8(1):23-38.

16. Costa Cardoso, J y Fan, H. Snakebites in South America. 1995: 261-329. En Meier J, White J (eds). Handbook of Clinical Toxicology of Animal Venoms and Poisons. CRC, Boca Raton, Florida, EEUU.
17. De Sousa, L; Vásquez, D; Salazar, D; Valecillos, R; Vásquez, D; Rojas, M y cols. Mortalidad en humanos por envenenamientos causados por invertebrados y vertebrados en el Estado Monagas, Venezuela. Invest Clín 2005; 46 (3).
18. Dixon, W y Mood, A. A method for obtaining and analyzing sensitivity data. J. Am. Statis. Ass 1948; 43: 109-126.
19. Filho, A. Accidentes provocados por animais peconhentos. En Ratton, I (ed). Medicina Intensiva, 2º ed, Sao Paulo: Ed. Atheneu; 1997. p. 574-79.
20. Furtado, M; Maruyama, M; Kamiguti, A y Antonio, L. Comparative study of nine *Bothrops* snake venoms from adult female snakes and their offspring. Toxicon 1991; 29 (2): 219-226.
21. García, S. VI Reunión de Expertos en Envenenamiento por animales ponzoñosos. Instituto de Biotecnología de la Universidad Autónoma de México, Cuernavaca, México 2003.
22. Gutierrez, J. y Lomonte, B. Local tissue damage induced by *Bothrops* snake venoms. A review. Mem Inst Butantan 1989; 51 (4): 211-223.
23. Gutierrez, J. y Sasa, M. Bites and envenomations by *colubrid* snakes in Mexico and Central America. J.Toxicol-Toxin Reviews 2002; 21 (1 y 2): 105-115.
24. Gutierrez, J; Zamuner, S; Zuliani, J; Fernandes, J y Pereira, C. Inflammation induced by *Bothrops asper* venom: release of proinflammatory cytokines and

- eicosanoids, and role of adhesion molecules in leukocyte infiltration. *Toxicon* 2005; 46 (7): 806-813.
25. Holycross, A; Pairter, C; Barker, D y Douglas, M. Foraging ecology of the threatened New Mexico rattlesnake *Crotalus willardi obcurus* 2002; 243-252. En Schuett, G; Hoggren, M; Douglas, M y Greene, H (eds). *Biology of the vipers*. Eagle Montain Publishing, Eagle Montain. Utah.
26. Kamiguti, A; Hay, C; Theakston, R y Zuzel, M. Insights into de mechanism of haemorrhage caused by snake venom metalloproteases. *Toxicon* 1996; 34 (6): 627-642.
27. Kamiguti, A; Cardoso, J; Theakston, R; Sanomartins, I; Hutton, R; Rugman, F y cols. Coagulopathy and haemorrhage in human victims of *Bothrops jararaca* envenoming in Brazil. *Toxicon* 1991; 29: 961-972.
28. Kiriakos, D. Envenenamiento ofídico en el Hospital Universitario Dr. Luis Razetti en el período 1989-1992. Tesis de Post-grado (no publicada). Barcelona, Venezuela: Universidad de Oriente; 1993.
29. Lancini, A. Serpientes de Venezuela. Caracas: Ernesto Armitano Ed; 1979.
30. Lancini, A. Serpientes de Venezuela. Caracas: Ernesto Armitano Ed.; 1986.
31. Lión, V; Rojas, A y Rodríguez- Acosta, A. Diseño de una prueba de aglutinación en látex, para detectar venenos de serpientes Viperidae en sueros de pacientes. *Rev Cub Med Trop* 2004; 56 (1).
32. Lomonte, B. Tissue damage and inflammation induced by snake venoms. University of Goteborg, Goteborg. Suecia 1994; 1-88.

33. Málaga, O; Pantigoso, C; Morante, Y; Heredia, V; Cárdenas, J y Yarleque, A. 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 2000; 7 (2): 56-62.
34. Markland, F. Snake venoms and the hemostatic system. Toxicon 1998; 36: 1749-1800.
35. MPPS. Anuario de Epidemiología y Estadística Vital del Ministerio de Salud 2004.
36. MPPS. Centro Nacional de Estadísticas del Ministerio de Salud 2005.
37. Ministerio de Salud y Acción Social. Instituto Nacional de Producción de Biológicos. Administración Nacional de Laboratorios e Institutos de Salud “Dr. Carlos G. Malbrán”. 1998. Programa Nacional de Ofidismo y Aracneísmo. Vigilancia Epidemiológica y Control de Ofidismo y Aracneísmo. Aspectos Programáticos. Buenos Aires, Argentina.
38. Ministerio de Saúde. Fundação Nacional de Saúde. Manual de Diagnóstico e Tratamento de Acidentes por Animais Peçonhentos. Ministerio de Saúde. Fundação Nacional de Saúde, Brasilia 1999;131.
39. Montilla, J; Álvarez, M; Díaz, E y Urdaneta, S. Hiperinmunización de ovinos contra veneno de *Bothrops asper* del Estado Zulia, Venezuela. Estudio preliminar. Rev Cient Maracaibo 2007; 17 (6).
40. Mota, J; Mendoza, S; Yoshida, E y Torres, M. Emponzoñamiento ofídico en los Altos Mirandinos, Enero 1997 a Enero 1998. Med Interna (Caracas) 1999; 15(2): 83-7.

41. Navarro, P; Garrido, E; Martín, A; Navarro, P y Gutiérrez, H. Emponzoñamiento ofídico en 17 niños: evaluación clínica y epidemiológica. *Antibiot infec* 2000; 8(2):65-9.
42. Pifano, F y Rodríguez-Acosta, A. El envenenamiento ofídico en Venezuela. Tesis de la Cátedra de Medicina Tropical de la Universidad Central de Venezuela. Caracas 1989; 1-36.
43. Pineda, D; Ghotme, K; Aldeco, M y Montoya, P. Accidentes ofídicos en Yopal y Leticia, Colombia, 1996-1997. *Biomédica* 2002; 22: 14-21.
44. Rivero, G; González, N; Rivas, R; Márquez, D y Antonelli, G. Aspectos clínicos y epidemiológicos de emponzoñamiento ofídico hospital "Gervasio Vera Custodio" Upata, estado Bolívar. Universidad Central de Venezuela. Caracas 2005.
45. Rodríguez-Acosta, A. Los venenos y el síndrome de envenenamiento ofídico. Instituto de Medicina Tropical, Universidad Central De Venezuela, Caracas, Venezuela. 1998.
46. Rodríguez-Acosta, A y Rengifo, C. Serpientes, Venenos y Tratamiento Médico en Venezuela. Instituto de Medicina Tropical, Universidad Central De Venezuela, Caracas, Venezuela. 2004.
47. Rodríguez-Acosta, A; Mondolfi, A; Orihuela, R y Aguilar, M. ¿Qué hacer frente a un accidente ofídico? Instituto de Medicina Tropical, Universidad Central De Venezuela, Caracas, Venezuela. 1995.
48. Rodríguez-Acosta, A; Monterrey, F; Céspedes, G y Finol, H. Alteraciones estructurales y ultraestructurales del en céfalo ocasionados por veneno de la serpiente mapanare (*Bothrops colombiensis*). *Rev Toxicol* 2003; 20(3): 199-203.

49. Rodríguez-Acosta, A; Uzcátegui, W; Azuaje, R; Aguilar, I y Girón, M. Análisis clínico y epidemiológico de los accidentes por mordeduras de serpientes del género *Bothrops* en Venezuela. Rev Cub Med Trop 2000; 52(2): 90-94.
50. Rodríguez-Acosta, A; Orihuela, R y Mondolfi, A. El accidente ofídico en Venezuela. Caracas: Venediciones; 1998. p. 1-106.
51. Rojas, G; Bogarín, G y Gutierrez, J. Snakebite mortality in Costa Rica. Toxicon 1997; 35: 1639-1643.
52. Rosenfeld, G. Symptomatology, pathology and treatment of snake bites in South America. En Bucherl, W; Buckley, E y Delofeu, V (eds). Venomous animals and their venoms. New York: Academic 1971: 229 – 70.
53. Rucavado, A. Componentes del veneno de *Bothrops asper* que afectan la hemostasis y su papel en el desarrollo del síndrome hemorrágico. Tesis de postgrado (publicada). Instituto Clodomiro Picado, Universidad de Costa Rica; 2006
54. Rucavado, A; Soto, M; Escalante, T; Loría, G; Arni, R y Gutierrez J. Thrombocytopenia and platelet hypoaggregation induced by *Bothrops asper* snake venom: toxins involved and their contribution to metalloproteinase-induced pulmonary hemorrhage. Thrombosis and Haemostasis 2005; 94 (1):123-131.
55. Russell, F; Bey, T y Fernández, M. Snakes and snakebite in Central America. Toxicon 1997; 35: 1469-1522.
56. Sasa, M y Vásquez S. Snakebite envenomation in Costa Rica: a revision of incidence in the decade 1990-2000. Toxicon 2003; 41: 19-22.
57. Sevcik, C. DL₅₀ determinations: objections to the method of Beccari as modified by Molinengo. Toxicon 1987; 25 (7): 779-783.

58. Toro, G. A randomized double-blind clinical trial of two antivenom in patients bitten by *Bothrops atrox* in Colombia. *Toxicon*. 1999; 37: 895-909.
59. 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 (no publicado). Universidad de Oriente.2007.

ANEXOS

Anexo 1



Anexo 1



UNIVERSIDAD DE ORIENTE
NÚCLEO DE ANZOÁTEGUI
ESCUELA DE MEDICINA

CENTRO DE INVESTIGACIONES EN CIENCIAS DE LA SALUD

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.	
-----	--

Anexo 2. Morbilidad registrada por mordeduras de serpientes. SaludAnz - Venezuela 2001– 2003.

ESTADO	2001	2002	2003
Amazonas	88	86	84
Anzoátegui	175	135	182
Apure	109	223	337
Aragua	64	90	110
Barinas	281	294	405
Bolívar	290	283	383
Carabobo	480	257	380
Cojedes	79	119	198
Delta Amacuro	101	54	117
Falcón	336	301	286
Guárico	162	81	193
Lara	126	689	582
Mérida	363	162	352
Miranda	136	325	377
Monagas	248	143	399
Nueva Esparta	49	55	24
Portuguesa	336	462	507
Sucre	91	109	98
Táchira	375	192	521
Trujillo	225	210	284
Vargas	16	36	54
Yaracuy	25	162	285
Zulia	680	586	717
TOTAL	4835	5054	6875

Anexo 3. Casos por mordeduras de serpientes. Semana Epidemiológica 1-48. SaludAnz. Estado Anzoátegui, 2005.

UBICACIÓN GEOGRÁFICA	NÚMERO DE CASOS
Anaco	13
Aragua de Barcelona	49
Bolívar	37
Bruzual	26
Cagigal	6
Carvajal	39
Freites	15
Guanta	2
Independencia	3
Libertad	4
Mac-Gregor	14
Miranda	17
Monagas	6
Peñalver	2
Píritu	16
San Juan de Capistrano	16
Santa Ana	9
Simón Rodríguez	11



Inyección VIP del veneno



Hipoactividad



Postración



Posición Antálgica



Muerte

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

TÍTULO	VARIACIÓN ONTOGÉNICA DEL VENENO DE <i>Bothrops colombiensis</i> (SERPENTES, VIPERIDAE); ESTUDIO COMPARATIVO ENTRE UNA MADRE Y SUS CRÍAS
SUBTÍTULO	

AUTOR (ES):

APELLIDOS Y NOMBRES	CÓDIGO CULAC / E MAIL
Astudillo Nuñez, Heira de los Ángeles	CVLAC: 17.212.661 E MAIL: puchiheira@hotmail.com
Osuna Gonzalez, Judiel Carolina	CVLAC: 18.274.372 EMAIL: Judiel_cog@hotmail.com

PALÁBRAS O FRASES CLAVES:

Envenenamiento ofídico, DL₅₀, *Bothrops colombiensis*, variación ontogénica

METADATOS PARA TRABAJOS DE GRADO, TESIS Y ASCENSO:

ÀREA	SUBÀREA
Ciencias de la Salud	Medicina

RESUMEN (ABSTRACT): Variación Ontogénica del veneno de *Bothrops colombiensis* (Serpentes, Viperidae); Estudio comparativo entre una madre y sus crías. Astudillo N., Heira; Osuna G., Judiel y Kiriakos, Demetrio. Universidad de Oriente, Núcleo Anzoátegui, 2009.

Se determinó la DL₅₀ del veneno de un ejemplar adulto de *Bothrops colombiensis* y de sus crías, en el modelo múrido C57bl/6, hembra, inyectados por vía intraperitoneal y para una hora de observación, por el método secuencial de Dixon y Mood (1948) modificado por Sevcik (1987). Los resultados obtenidos para la DL₅₀ del veneno del ejemplar adulto fue 15,85 mg/kg y la del veneno de las crías 28,37 mg/kg. Los signos clínicos más frecuentes, observados luego de la inyección del veneno del ejemplar adulto *Bothrops colombiensis* fueron: taquipnea, hipoactividad, postración y períodos de apnea, con frecuencias que variaron entre 68,65% y 100%, con un promedio de tiempo de aparición entre 1 y 53 minutos. Mientras que las manifestaciones observadas tras la inyección del veneno de las crías de *Bothrops colombiensis*, en múridos C57bl/6, en 60 minutos de observación fueron taquipnea, hipoactividad, postración y posición antálgica, apareciendo antes de los 20 minutos de observación. En conclusión, existen diferencias significativas en cuanto a la potencia del veneno de *Bothrops colombiensis* con relación a sus estadios ontogénicos, siendo el de las crías menos potente que el veneno de la madre mientras que las manifestaciones tóxicas agudas, en el modelo múrido C57bl/6, inyectados vip fueron similares en ambos estadios ontogénicos.

METADATOS PARA TRABAJOS DE GRADO, TESIS Y ASCENSO:

CONTRIBUIDORES:

APELLIDOS Y NOMBRES	ROL / CÓDIGO CVLAC / E_MAIL				
Dr. De Sousa José	ROL	CA	AS	TU	JU X
	CVLAC:	14.214.493			
	E_MAIL	leonardodesousa@yahoo.com			
	E_MAIL				
Dra. Ovalles María	ROL	CA	AS	TU	JU X
	CVLAC:	4.004.630			
	E_MAIL				
	E_MAIL				
Dra. Kiriakos Demetrio	ROL	CA	AS X	TU	JU
	CVLAC:	5.698.723			
	E_MAIL				
	E_MAIL				
	ROL	CA	AS	TU	JU
	CVLAC:				
	E_MAIL				
	E_MAIL				

FECHA DE DISCUSIÓN Y APROBACIÓN:

10	05	21
AÑO	MES	DÍA

LENGUAJE. SPA

METADATOS PARA TRABAJOS DE GRADO, TESIS Y ASCENSO:

ARCHIVO (S):

NOMBRE DE ARCHIVO	TIPO MIME
TESIS_HEIRA_Y_JUDI_DEFIIITIVO	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 Investigaciones en Ciencias de la Salud.

TEMPORAL:

TÍTULO O GRADO ASOCIADO CON EL TRABAJO:

CIRUJANO GENERAL

NIVEL ASOCIADO CON EL TRABAJO:

PREGRADO

ÁREA DE ESTUDIO:

ESCUELA DE CIENCIAS DE LA SALUD

INSTITUCIÓN:

UNIVERSIDAD DE ORIENTE. NÚCLEO DE ANZOÁTEGUI

METADATOS PARA TRABAJOS DE GRADO, TESIS Y ASCENSO:

DERECHOS

De acuerdo al artículo 44 del Reglamento de Trabajos de Grado:

“Los trabajos de Grado son exclusiva propiedad de la Universidad de Oriente y solo podrán ser utilizados a otros fines con el consentimiento Del Consejo de Núcleo respectivo, quién lo participará al Consejo Universitario”

Astudillo Nuñez, Heira de los Ángeles

AUTOR

Osuna González, Judiel Carolina

AUTOR

Dr. De Sousa José

JURADO

Dra. Ovalles María

JURADO

Dr. Kiriakos Demetrio

ASESOR

Dra. Villegas, Rosibel

**POR LA SUBCOMISION DE TRABAJOS DE GRADO,
TESIS Y ASCENSO**

