

**DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD CARDIOTÓXICA DEL VENENO DEL
ESCORPIÓN *Tityus sp*, EN RATAS WISTAR *Rattus norvegicus*.**

CAROLINA BOLAÑOS BURGOS

**UNIVERSIDAD DEL CAUCA
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES EXACTAS Y DE LA EDUCACIÓN
DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA
POPAYÁN
2013**

**DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD CARDIOTÓXICA DEL VENENO DEL
ESCORPIÓN *Tityus sp*, EN RATAS WISTAR *Rattus norvegicus*.**

CAROLINA BOLAÑOS BURGOS

**Trabajo de grado presentado como requisito para optar por el título de
Bióloga**

Director

**JOSÉ TORIBIO BELTRAN VIDAL
M.Sc. Recursos Hidrobiológicos Continentales**

**Asesor: JIMMY ALEXANDER GUERRERO VARGAS
Ph.D Biología Animal**

**Asesor: HARRY MORALES DUQUE
M.Sc. Biología Molecular**

**UNIVERSIDAD DEL CAUCA
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES EXACTAS Y DE LA EDUCACIÓN
DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA
POPAYÁN
2013**

NOTA DE ACEPTACIÓN

Jurado

Jurado

José Toribio Beltrán Vidal
Director del Trabajo de Grado

Ciudad y fecha de sustentación: Popayán _____ de _____ de _____

A mi padre Eyder Bolaños

A mi madre Consuelo Burgos

A mi hermana Daniela Bolaños

A mi abuela Blanca Hoyos

AGRADECIMIENTOS

- A la Virgen de Guadalupe, al Niño Jesús de Praga y a Santa Rita de Casia por iluminarme, acompañarme y darme la fuerza en cada momento de mi vida, especialmente en esta meta.
- A la Universidad del Cauca, al Departamento de Biología y al Cuerpo de profesores, por brindarme la formación académica para lograr el título de profesional.
- Al Centro de Investigaciones Biomédicas de la Universidad del Cauca (CIBUC), y su personal por contribuir a mi formación.
- A la Unidad de Microscopía Electrónica, por permitirme realizar mi trabajo experimental y por la prestación de los equipos.
- A mi Director José Beltrán Vidal, por su enseñanza, colaboración, consejos, apoyo para la realización del trabajo y por creer en mí.
- A mi Asesor Jimmy Guerrero Vargas, por sus grandes aportes, colaboración, consejos y por todo lo aprendido.
- A mi Asesor Harry Morales, por sus aportes, colaboración, enseñanzas y apoyo a mi trabajo.
- A los jurados Catalina Coral y Rosa Amalia Dueñas, por sus sugerencias, correcciones, consejos y colaboración en el trabajo.
- A la profesora Patricia Mosquera, por su gran apoyo, colaboración y cariño.
- Al Técnico Laboratorista de la Facultad de Ciencias de la Salud Albeiro Polanco, por su colaboración en la realización de la histología y conocimientos compartidos.
- Al Médico Veterinario Gustavo Bustamante, por sus conocimientos y colaboración con la sedación de los animales.

- Al Doctor Santiago Ayerbe, por su colaboración en la lectura de los electrocardiogramas y conocimientos aportados.
- Al Doctor Ángel Ceballos, por su colaboración en la lectura de la histología y conocimientos compartidos.
- A Claudia Arenas, por su colaboración para la toma de los electrocardiogramas y conocimientos compartidos.
- A mi Papá por el gran cariño, apoyo, comprensión, confianza, por ser mi guía y ejemplo a seguir, a mi Mamá por darme apoyo, ánimo y fuerza espiritual y a mi hermana por su compañía.
- A Rafael Solano, por su amor, colaboración, ánimo, consejos, palabras y críticas, que aportaron a mi vida y trabajo.
- A mis grandes amigos Andrea Corredor, Alejandra Velasco y José Manuel Bonilla, por su amistad incondicional, compañía, consejos y colaboración incondicional.
- A mis grandes amigas Camila Tejada y Milena Martínez, por su compañía, colaboración y consejos.
- A mis compañeros Adriana Cuaspud, Víctor Mondragón y Julián Álvarez, por su colaboración y apoyo en la parte experimental.
- A mis compañeros, por su apoyo y compañía durante la carrera.
- A María del Mar Rivera, por su gran colaboración, compañía apoyo y consejos durante la realización de mi trabajo.

TABLA DE CONTENIDO

	Página
RESUMEN.....	14
1. INTRODUCCIÓN.....	15
2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	17
3. JUSTIFICACIÓN	18
4. MARCO TEÓRICO.....	19
4.1 GENERALIDADES DE LOS ESCORPIONES	19
4.2 EFECTOS DEL VENENO DEL GENERO <i>Tityus</i>	20
4.3 ELECTROCARDIOGRAFÍA.	22
4.3.1 Sistema de conducción cardiaca en mamíferos	24
4.3.2 Frecuencia cardíaca (FC)	24
4.3.3 Ritmo sinusal.	25
4.3.4 Arritmias Cardiacas.	25
4.3.4.1 <i>Extrasístoles</i>	26
4.3.4.2 <i>Taquiarritmias</i>	27
4.3.4.3 <i>Bradiarritmias</i>	27
4.4 MIOCARDIO	28
4.5 ENZIMAS CARDIACAS CK Y CK-MB	30
5. ANTECEDENTES.....	31
6. OBJETIVOS.....	36
6.1 OBJETIVO GENERAL	36
6.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	36

7. MATERIALES Y MÉTODOS.....	37
7.1 COLECTA DE ESCORPIONES	37
7.1.1 Mantenimiento de los escorpiones	37
7.1.2 Extracción del veneno	37
7.1.3 Procesamiento del veneno	38
7.2 TIPO DE ESTUDIO	38
7.3 ANIMALES EXPERIMENTALES	38
7.4 DISEÑO EXPERIMENTAL	38
7.5 REGISTROS ELECTROCARDIOGRÁFICOS	40
7.5.1 Lectura de registros electrocardiográficos.	41
7.6 DETERMINACIÓN DE NIVELES DE ENZIMAS CARDIACAS CK Y CK-MB	42
7.7 HISTOLOGÍA	43
8. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	44
8.1 CLASIFICACIÓN DE LA SINTOMATOLOGÍA.	44
8.2 ANÁLISIS ELECTROCARDIOGRÁFICO	47
8.2.1. Variaciones de la frecuencia cardiaca	47
8.2.2. Arritmias cardiacas.	50
8.2.2.1. <i>Extrasístoles.</i>	50
8.2.2.2. <i>Taquiarritmias.</i>	53
8.2.2.3 <i>Bradiarritmias.</i>	57
8.3 ANÁLISIS DE ENZIMAS CARDIACAS CK y CK-MB	65
8.3.1 Enzima CK	65
8.3.2 Isoenzima CK-MB	67
8.4 HISTOLOGÍA CARDIACA.	70
8.4.1 Infiltrado inflamatorio	70
8.4.2 Edema	73
8.4.3 Necrosis	77

9.	CONCLUSIONES.....	81
10.	RECOMENDACIONES	83
11.	BIBLIOGRAFÍA	84

ÍNDICE DE TABLAS

	Página.
Tabla 1. Aplicación de los tratamientos por bloque.....	39
Tabla 2. Estadística de las pruebas aplicadas.....	39
Tabla 3. Clasificación de la sintomatología (signos y síntomas), producidos por la picadura de escorpión, según la severidad.....	44
Tabla 4. Frecuencia cardiaca expresada en latidos por minuto (lpm), para el grupo control y los tratamientos con el veneno de <i>T.sp.</i>	47

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página.
Figura 1. Escorpión <i>Tityus sp</i> , hembra en estado adulto.	20
Figura 2. Sistema conducción eléctrica del corazón (despolarización-repolarización).	23
Figura 3. Registro electrocardiográfico de rata (<i>R. norvegicus</i>), en la derivación II, con ritmo sinusal.	25
Figura 4. Distribución de los electrodos en las extremidades la rata (<i>R. norvegicus</i>).	41
Figura 5. Análisis de Chi – cuadrado de la sintomatología presentada por las ratas durante la inoculación con el veneno de <i>T. sp</i>	45
Figura 6. Análisis de ANOVA de 1 vía para la frecuencia cardiaca presentada por las ratas en el grupo control y las dosis (20%, 40%, 80%), post-inoculación del veneno de <i>T. sp</i>	48
Figura 7. Registro electrocardiográfico de rata (<i>R. norvegicus</i>), en la derivación II, con extrasístoles ventriculares.	50
Figura 8. Análisis de Chi-Cuadrado del número de animales que presentaron extrasístoles ventriculares en los registros electrocardiográficos, por dosis de veneno.	51
Figura 9. Registro electrocardiográfico de rata (<i>R. norvegicus</i>), en la derivación II con fibrilaciones auriculares.	53
Figura 10. Análisis de Chi-Cuadrado del número de animales que presentaron fibrilaciones auriculares en los registros electrocardiográficos, por dosis de veneno.	54

Figura 11. Registro electrocardiográfico de rata (<i>R. norvegicus</i>), en la derivación II, con fibrilación ventricular.	56
Figura 12. Registro electrocardiográfico de rata (<i>R. norvegicus</i>), en la derivación II, con bloqueo auriculo-ventricular de primer grado.	57
Figura 13. Análisis de Kruskal-Wallis de la duración del intervalo P-R en los bloqueos auriculo-ventriculares de primer grado, para el grupo control y las dosis aplicadas de veneno de <i>T. sp.</i>	58
Figura 14. Registro electrocardiográfico de rata (<i>R. norvegicus</i>), en la derivación II, con bloqueo auriculo-ventricular de segundo grado.	59
Figura 15. Análisis Kruskal- Wallis de la duración del intervalo P-R en los bloqueos auriculo-ventriculares de segundo grado, para el grupo control y las dosis aplicadas del veneno de <i>T. sp.</i>	60
Figura 16. Registro electrocardiográfico de rata (<i>R. norvegicus</i>), en la derivación II, con bloqueo auriculo-ventricular de tercer grado.	62
Figura 17. Análisis Kruskal- Wallis de la duración del intervalo P-R en los bloqueos auriculo-ventriculares de tercer grado, para el grupo control y las dosis aplicadas de veneno de <i>T. sp.</i>	63
Figura 18. Análisis de Kruskal-Wallis de los valores de la enzima cardiaca CK, para el grupo control y las diferentes dosis aplicadas del veneno de <i>T. sp.</i>	65
Figura 19. Análisis de Kruskal-Wallis de los valores de la isoenzima cardiaca CK-MB, para el grupo control y las diferentes dosis aplicadas del veneno de <i>T. sp.</i> ...	67
Figura 20. Infiltrado inflamatorio del tejido cardiaco de las ratas inoculadas con el veneno de <i>T. sp.</i> , (A) Tejido cardiaco grupo control, (B) Infiltrado inflamatorios del tejido de ratas inoculadas con el 20% DL ₅₀ , (C) Infiltrado inflamatorios del tejido de ratas inoculadas con el 40% DL ₅₀ , (D) Infiltrado inflamatorios del tejido de ratas inoculadas con el 80% DL ₅₀ . H-E. 100X.	70

Figura 21. Análisis de Chi- Cuadrado para el número de animales que presentaron infiltrados inflamatorios en el tejido cardiaco, por dosis de veneno aplicado.	71
Figura 22. Edema (E), del tejido cardiaco de las ratas inoculadas con el veneno de <i>T. sp</i> , (A) Tejido cardiaco grupo control, (B) Edema del tejido de ratas inoculadas con el 20% DL ₅₀ , (C) Edema del tejido de ratas inoculadas con el 40% DL ₅₀ , (D) Edema del tejido de ratas inoculadas con el 80% DL ₅₀ . H-E. 100X.	73
Figura 23. Análisis de Chi- Cuadrado para el número de animales que presentaron edema en el tejido cardiaco, por dosis de veneno aplicado.	74
Figura 24. Necrosis (N) del Tejido cardiaco de las ratas inoculadas con el veneno de <i>T. sp</i> , (A) Tejido cardiaco grupo control, (B) Necrosis del tejido de ratas inoculadas con el 20% DL ₅₀ , (C) Necrosis del tejido de ratas inoculadas con el 40% DL ₅₀ , (D) Necrosis del tejido de ratas inoculadas con el 80% DL ₅₀ . H-E. 100X.	77
Figura 25. Análisis de Chi- Cuadrado para número de animales que presentaron necrosis del tejido cardiaco, por dosis de veneno aplicado.	78

RESUMEN

En Colombia el escorpionismo es un problema de salud pública subestimado, y por lo tanto no es de reporte obligatorio, debido a esto, los registros de incidencia, las especies causantes y los efectos fisiopatológicos de los venenos de escorpiones colombianos son limitados (Rodríguez-Vargas, 2012). En el Departamento del Cauca, la especie *Tityus sp*, es una de las causantes de los casos de escorpionismo, siendo los adultos la población más frecuentemente afectada, sin embargo las manifestaciones graves se presentan en los niños menores de 11 años y entre ellos, la mortalidad es mayor (Chippaux and Goyffon, 2008; Otero et al., 2004). El objetivo de este trabajo fue determinar el efecto cardiotoxico del veneno del escorpión *Tityus sp*, sobre ratas Wistar macho (n=16) (200±20g). Para este fin se implementó un diseño completamente aleatorio, con tres grupos experimentales a los que se les aplicó por vía intraperitoneal 3 dosis subletales (80%, 40% y 20%) de la dosis letal cincuenta (DL₅₀) (3,5mg/Kg) del veneno y un grupo control tratado con solución salina, 0,9%. Los registros electrocardiográficos fueron, antes y después de 1, 2 y 3 horas de la inoculación de veneno. Además se determinó los niveles de enzimas cardíacas CK y CK-MB. Finalmente los animales fueron eutanasiados y se les extrajo el corazón para realizarles estudios histopatológicos. Los registros electrocardiográficos mostraron un cronotropismo negativo con bradicardia proporcional a la dosis de veneno aplicado, encontrándose además alteraciones en el sistema de conducción cardíaca generada por la presencia de fibrilaciones auriculares, extrasístoles ventriculares y bloqueos auriculo-ventriculares de 1°, 2° y 3°, con mayor efecto en la subdosis del 80%. El análisis de enzimas cardíacas reveló una elevación de los niveles de la enzima CK y de su fracción CK-MB. La evaluación histopatológica evidenció la aparición de infiltrado inflamatorio, edema y necrosis en el tejido cardíaco, dependientes de la dosis de veneno aplicado. Este trabajo permite establecer el efecto producido por el veneno del escorpión *Tityus sp* a nivel cardíaco que contribuirá a la aplicación de un tratamiento médico adecuado.

1. INTRODUCCIÓN

El escorpionismo es un problema de salud pública, que afecta principalmente a países Latinoamericanos como México con 250.000 casos por año y Brasil con 21.500 (Lourenço et al., 2003). En Colombia durante el periodo comprendido entre el 2006 y el 2010 se reportaron 441 casos (Rodríguez Vargas, 2012). Este problema es común y afecta principalmente a niños menores de 11 años. (Gómez et al., 2010).

Los escorpiones son artrópodos distribuidos geográficamente en todo el mundo, incluyendo regiones tropicales y subtropicales (Dehesa-Dávila et al., 1995; Dehesa-Dávila and Possani, 1994). Se encuentran agrupados aproximadamente en 22 familias con cerca de 1500 especies conocidas (Brownell and Polis, 2001; Lourenço et al., 2003), siendo la familia Buthidae la reportada como venenosa para los seres humanos (Fet et al., 2000). En Colombia se encuentran 5 géneros pertenecientes a esta familia: *Ananteris* (13 especies), *Centruroides* (4 especies), *Rhopalurus* (1 especie), *Microtityus* (2 especies) y *Tityus* (30 especies), una de ellas *Tityus sp*, que fue descubierta hace poco tiempo en la ciudad de Popayán y su descripción está en proceso de publicación. (Botero-Trujillo, 2009; Botero-Trujillo and Noriega, 2008; Flórez, 2001).

En algunas regiones de Colombia se han presentado casos fatales por picadura de escorpión particularmente en los departamentos de Boyacá (Puerto Boyacá), Caldas (La Dorada), Tolima (Honda, Melgar, El Guamo y Ortega), Huila (Neiva, Aipe y Villavieja) y Cundinamarca (Girardot). (Gómez C and Otero P, 2007). La mayoría de los casos se caracterizan por ser complejos sindrómicos principalmente asociados a disfunción en los sistemas cardiorrespiratorio y nervioso. (Izquierdo and Rodríguez Buitrago, 2012a; Pinto et al., 2010b; Pinto et al., 2010c; Tomassone et al., 2003).

El veneno de los escorpiones del género *Tityus*, es un coctel de diversos péptidos neurotóxicos, que actúan interfiriendo sobre canales iónicos de Na^{+1} , Ca^{+2} , K^{+1} y Cl^{-2} (Barona et al., 2006; Saldarriaga Córdoba and Otero Patiño, 2000). Uno de los principales órganos afectados es el corazón (Pinto et al., 2010b; Pinto et al., 2010c), el veneno influye sobre su marcapaso natural, desencadenando la formación de arritmias cardíacas y otros signos de envenenamiento sistémico, como sialorrea, sudoración, taquipnea y efectos cardiorrespiratorios, neurotóxicos, colinérgicos, adrenérgicos, renales, entre otros. (Arenas et al., 2010; Izquierdo and Rodríguez Buitrago, 2012b; Pinto et al., 2010b).

El presente estudio tiene como objetivo determinar las alteraciones fisiológicas, anatómicas, electrocardiográficas, enzimáticas e histopatológicas, que se producen en el corazón de ratas WISTAR, como efecto de la exposición al veneno del escorpión *T. sp.*

2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El escorpionismo en Colombia no es objeto de vigilancia y por lo mismo no es de notificación obligatoria (Rodríguez-Vargas, 2012), desconociéndose su realidad epidemiológica, a pesar, de los casos graves reportados hasta el momento (Izquierdo and Rodríguez Buitrago, 2012a) y, teniendo en cuenta que a diferencia de los accidentes ofídicos, la mayoría de los accidentes por escorpiones ocurren dentro del domicilio de las personas (Gómez and Otero, 2007). Por lo tanto, cuando se presenta un accidente por picadura de escorpión, por desconocimiento de los efectos de los venenos y sus posibles consecuencias no se aplica el tratamiento adecuado a las personas afectadas.

Debido a estos problemas se formula la siguiente pregunta: ¿Puede el veneno total de *T. sp* aplicado en dosis subletales causar algún efecto en el corazón de ratas Wistar?

Si se produce un efecto cardíaco, este estudio permitirá evaluarlo desde la electrocardiografía, análisis enzimáticos e histopatológicos en animales experimentales, por lo tanto, será factible extrapolar los datos obtenidos a humanos, así este estudio busca responder a los siguientes interrogantes:

¿Causa el veneno total de *T.sp* alteraciones electrocardiográficas? ¿Altera el veneno las concentraciones enzimáticas de CK y CK-MB?, ¿Causa el veneno daño en el tejido cardíaco?

Si estas respuestas son positivas, el presente estudio se convertirá en un punto de partida para futuras investigaciones en cuanto al efecto cardíaco del veneno de esta especie. Además aportará información relevante para ser analizada en el campo de la medicina y así brindar un mejor tratamiento a las víctimas.

3. JUSTIFICACIÓN

En Colombia y en especial en el Departamento del Cauca no existen registros que permitan definir con certeza la incidencia y gravedad del escorpionismo. La vigilancia epidemiológica, los estudios realizados, la producción de antivenenos y los conocimientos sobre la prevención, tratamiento y manejo son limitados, generando un riesgo para la sociedad.

En virtud de lo anterior, varios investigadores se han interesado en el estudio de este tema, motivados por los efectos de la picadura de estos artrópodos y por el aporte al conocimiento sobre la letalidad de las especies de nuestro departamento (Arenas et al., 2010; Dueñas, 2009; Guerrero-Vargas, 2002; Morales and Guerrero-Vargas, 2011).

El veneno del escorpión *T.sp*, es el objeto de este estudio. Sobre el cual se conocen investigaciones para la determinación de la dosis letal 50, el efecto antibacteriano, la actividad neurotóxica (Morales and Guerrero-Vargas, 2011) y la acción de éste sobre los canales de Na^{+1} y K^{+1} (Arenas, 2013; Morales, 2013). Lo anterior motiva al estudio de esta especie, que al pertenecer al género *Tityus*, estaría dentro de los escorpiones que producen una amplia sintomatología a nivel cardíaco y neurológico en pacientes afectados (Benvenuti et al., 2002; Izquierdo and Rodríguez Buitrago, 2012a; Pinto et al., 2010b).

De esta forma, se contribuye al conocimiento de los efectos cardiotóxicos del veneno y la determinación de los síntomas generales.

4. MARCO TEÓRICO

4.1 GENERALIDADES DE LOS ESCORPIONES.

Los escorpiones son invertebrados terrestres que pertenecen al Phylum Artrópoda (artrópodos), Subphylum Chelicerata (quelicerados), Clase Arachnida (arácnidos), Orden Escorpionida (escorpiónidos) (Brusca and Brusca, 2005). Estos se distinguen de los demás arácnidos por presentar pedipalpos desarrollados con una división distinta (opistosoma), la cual termina en el telson que contiene un par de glándulas venenosas y un aguijón inoculador de veneno (Florez, 2007; Gómez and Otero, 2007), que utilizan ya sea para defensa o para capturar el alimento. Su actividad es nocturna, son carnívoros, durante el día se ocultan y pueden tener hábitos extra e intra-domiciliarios (Florez, 2007; Otero et al., 2004).

La distribución de los escorpiones está fuertemente ligada a las condiciones ambientales de temperatura y humedad. Aunque generalmente se les asocia con sequedad y altas temperaturas, e incluso con condiciones desérticas, existen especies que prefieren sitios con mayor humedad y temperaturas relativamente bajas. En la actualidad están distribuidos geográficamente en todo el mundo, incluyendo regiones tropicales y subtropicales (Dehesa-Dávila et al., 1995; Dehesa-Dávila and Possani, 1994), agrupándose aproximadamente en 22 familias con 1500 especies conocidas (Brownell and Polis, 2001; Lourenço et al., 2003). En Colombia se encuentran 5 géneros pertenecientes a la familia Buthidae: *Ananteris*, *Centruroides*, *Rhopalurus*, *Microtityus* y *Tityus* con 30 especies (Botero-Trujillo, 2009; Botero-Trujillo and Noriega, 2008; Flórez, 2001).

El género *Tityus*, es el más diversificado de la escorpiofauna americana, se distribuye desde Costa Rica (América Central) hasta Argentina, en Suramérica, incluidas las Islas Antillanas. Este taxón está integrado por más de 140 especies, la mayoría de las cuales han sido asignadas a varios grupos (Fet et al., 2000). Su

veneno se caracteriza por ser un coctel de diversos péptidos neurotóxicos que actúan principalmente sobre los canales iónicos de Na^{+1} , Ca^{+2} , K^{+1} y Cl^{-2} (Barona et al., 2006; Saldarriaga Córdoba and Otero Patiño, 2000), en membranas excitables afectando el tejido nervioso, glandular y muscular, causando efectos neurotóxicos colinérgicos y adrenérgicos, renales y dificultad cardiorrespiratoria además de signos de envenenamiento sistémico como sialorrea, sudoración, taquipnea, entre otros (Albornoz et al., 2008; Becerril et al., 1997; Bertazzi et al., 2003; Cheikh et al., 2006).



Figura 1. Escorpión *Tityus* sp, hembra en estado adulto.

4.2 EFECTOS DEL VENENO DEL GENERO *Tityus*.

El veneno del escorpión es una secreción apocrina compuesta de proteínas (neurotoxinas) y péptidos de bajo peso molecular que ejercen sus acción en los canales iónicos dependientes de voltaje (Na^{+1} , K^{+1} , Ca^{+1} , Cl^{-2}) (Barona et al., 2006), provocando un aumento de la excitabilidad celular y la liberación de

neurotransmisores (catecolaminas y acetilcolina), en las terminaciones postganglionares simpáticas y parasimpáticas (Otero et al., 2004), sus componentes más letales son las α y β toxinas; cuyos blancos moleculares son los canales de Na^{+1} en las membranas excitables; las cuales modifican los mecanismos de permeabilidad iónica fundamentales para la homeostasis celular de varios órganos y sistemas (Hanck and Sheets, 2007; Jiménez-Vargas et al., 2012). Los efectos farmacológicos posteriores se deben, al menos en parte, a la descarga de catecolaminas y acetilcolina como resultado de la despolarización de terminales pre- y post-ganglionares del sistema nervioso autónomo, produciendo los signos y síntomas clásicos observados en el escorpionismo (Otero et al., 2004).

El envenenamiento sistémico, causado por picadura de escorpión se caracteriza por presentar manifestaciones cardiovasculares, pulmonares y neurológicas, que pueden ser mortales, especialmente en niños menores de 11 años de edad (Gómez et al., 2010), debido a complicaciones tales como disfunción miocárdica, shock, síndrome de distrés respiratorio agudo (SDRA), edema pulmonar o encefalopatía hipertensiva con edema cerebral (Otero et al., 2004).

Según Gómez, 2010, dentro la sintomatología producida por la picadura de escorpión se encuentra:

- ❖ **Sialorrea:** Flujo exagerado de saliva.

- ❖ **Piloerección:** Pelos que se erizan debido a la acción de los músculos erectores del pelo, llamados piloerectores o pilomotores.

- ❖ **Midriasis:** Dilatación de las pupilas por contracción del iris.

- ❖ **Tremor:** Es un movimiento involuntario, contracciones que involucran oscilaciones o espasmos musculares de una o más partes del cuerpo.

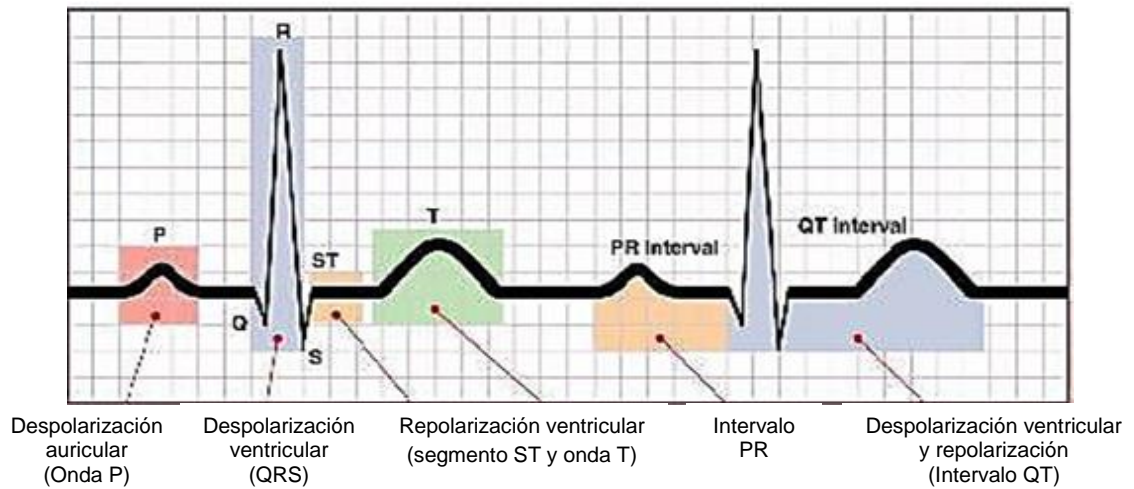
- ❖ **Lagrimeo:** Se entiende por lagrimeo el exceso de producción lacrimal.

- ❖ **Rinorrea:** Es el flujo o emisión abundante de moco por vía nasal.

4.3 ELECTROCARDIOGRAFÍA

El nombre electrocardiograma está compuesto por el griego *electro* que implica la actividad eléctrica, *cardio* del griego corazón y *grama*, del griego, que significa escritura. El ECG es el gráfico que se obtiene con el electrocardiógrafo para medir la actividad eléctrica del corazón a partir de electrodos colocados en la piel del individuo. Es el instrumento principal de la electrofisiología cardiaca y tiene una función relevante en el cribado y diagnóstico de las enfermedades cardiovasculares, alteraciones metabólicas y la predisposición a una muerte súbita cardiaca, además tiene la ventaja de ser un procedimiento médico con resultados disponibles inmediatos; no es invasivo y es económico (Giraldo, 2000).

Según Giraldo, 2010, el electrocardiograma está compuesto por una serie de derivadas, las cuales se clasifican en pequeños grupos: derivadas bipolares (DI, DII, DIII), derivadas unipolares (AVL, AVR, AVF) y las derivadas precordiales (V1, V2, V3, V4, V5, V6). Para comprender como ocurre la despolarización de las aurículas y los ventrículos se debe conocer la morfología de las ondas P, el complejo QRS, y la onda T.



Fuente: Tomado de <http://www.dalcame.com/ecg.html#UI2PNFBWySo>.

Figura 2. Sistema conducción eléctrica del corazón (despolarización-repolarización).

- ❖ **Onda P:** Es la despolarización de los atrios o aurículas.
- ❖ **Intervalo P-R:** Se trata del tiempo que transcurre desde la salida del impulso en el nodo sinusal, hasta alcanzar el nodo auriculo-ventricular.
- ❖ **Complejo QRS:** Indica la despolarización del miocardio ventricular.
- ❖ **Onda T:** Repolarización ventricular.
- ❖ **Intervalo Q-T:** Despolarización y repolarización ventricular. (Belerenian et al., 2001).

4.3.1 Sistema de conducción cardíaca en mamíferos

Según Belerenian y colaboradores, 2001, el sistema de conducción cardíaco en mamíferos está conformado por un conjunto de células musculares modificadas, para optimizar la conductividad eléctrica y que se encuentran agrupadas en las siguientes estructuras anatómicas:

- ❖ **Nodo Sinoauricular:** Se encuentra ubicado en la aurícula derecha en relación a la desembocadura de las venas cavas.
- ❖ **Nodo Auriculo-ventricular (AV):** Situado en la unión auriculo-ventricular derecha en relación a la base del tabique interventricular.
- ❖ **Haz de Hiss:** Es un cordón que rápidamente se divide en dos ramas, izquierda y derecha; discurre por el tabique interventricular y luego da origen por ramificaciones posteriores a las fibras de Purkinje, las cuales se distribuyen en el miocardio ventricular.

4.3.2 Frecuencia cardíaca (FC)

La frecuencia cardíaca está en función de muchas variables, se regula por un equilibrio entre la actividad simpaticomimética y parasimpaticomimética (vagal). La estimulación parasimpaticomimética reduce la frecuencia cardíaca, mientras que la estimulación simpaticomimética la incrementa (Cunningham and Hernández, 1999).

El estímulo parasimpaticomimético puede además estar influenciado por el estado del corazón y del sistema circulatorio. El nodo sinusal es el marcapaso biológico del corazón; bajo circunstancias normales el corazón de una rata late entre 400-450, veces por minuto (López, 1995). Si el nodo sinusal falla, la próxima área

marcapaso será la unión aurículo-ventricular que permite latir al corazón a una frecuencia más baja por minuto. Si fallan ambos, el nodo sinusal y la unión atrio-ventricular, los ventrículos tomarán el mando y la frecuencia cardíaca descenderá aún más (Escobar, 2003).

4.3.3 Ritmo sinusal

En un ritmo sinusal o normal, hay una onda P precediendo a cada complejo QRS y a una onda T (Escobar, 2003). En ratas, este se identifica cuando la frecuencia cardíaca se encuentra en el rango de 400 y 450 latidos por minuto (López, 1995).

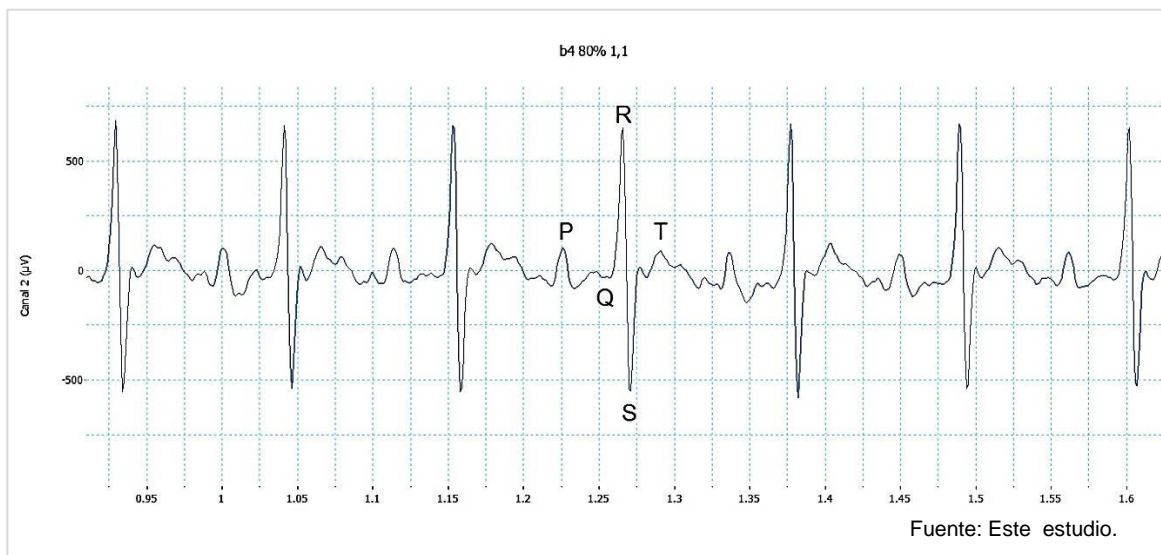


Figura 3. Registro electrocardiográfico de rata (*R. norvegicus*), en la derivación II, con ritmo sinusal.

4.3.4 Arritmias Cardiacas

Las arritmias cardiacas se definen como un trastorno de la formación y/o conducción de los estímulos cardiacos que mantienen la actividad eléctrica normal del corazón, tales como: cambios en el lugar en la iniciación o la secuencia de los

impulsos, un simple retardo o una secuencia de activación anormal (Cunningham and Hernández, 1999).

Según Escobar, 2003, las arritmias cardíacas se clasifican en:

4.3.4.1 Extrasístoles:

Las extrasístoles (ES) se pueden presentar en cualquier parte del sistema eléctrico del corazón, desde el nodo sinusal hasta el Purkinje ventricular; se divide en 2 grupos: las ES supraventriculares que se originan por encima de la bifurcación de las Haz de Hiss y las ES ventriculares por debajo de esta.

- ❖ **Extrasístole supraventricular:** es un impulso eléctrico prematuro en el corazón, producido por una contracción auricular anticipada, puede generarse en el nodo sinusal, en la aurícula y en el tejido de unión.

- ❖ **Extrasístole ventricular:** Es un trastorno del ritmo cardíaco y se caracteriza por un latido adelantado respecto a la frecuencia cardíaca normal del individuo, percibiéndose como un *salto* en los latidos o palpitaciones. En estos casos, el foco ectópico puede estar en cualquier lugar del sistema de conducción comenzando en el ventrículo en vez de su lugar usual, el nodo sinusal.

4.3.4.2 Taquiarritmias

Las taquiarritmias pueden ser supraventriculares o ventriculares:

- Taquiarritmias supraventriculares
 - ❖ **Fibrilación Auricular:** Esta arritmia se caracteriza habitualmente por una activación rápida y caótica de las aurículas, donde no existen ondas P y se presentan ondulaciones irregulares, en la línea base (ondas de fibrilación). Esta fibrilación origina un ritmo cardiaco anormal generando que la frecuencia cardiaca de los ventrículos este determinada por el número de impulsos que el nódulo AV pueda conducir, lo que suele ser una consecuencia de alteraciones y dilataciones en las aurículas (Nelson et al., 2000).
- Taquiarritmias ventriculares
 - ❖ **Fibrilación Ventricular:** Este ritmo letal está caracterizado por una actividad eléctrica caótica en los ventrículos; el ECG, presenta una base con ondulaciones irregulares, donde las ondas electrocardiográficas no se diferencian (Nelson et al., 2000).

4.3.4.3 Bradiarritmias

- ❖ **Bradicardia Sinusal:** Es la disminución del automatismo sinusal cardiaco, se puede dar por disminución de la pendiente de la fase 4 del potencial de acción, por hiperpolarización o por aumento del potencial de tiro, lo que se ve reflejado en una baja de la frecuencia cardiaca (Escobar, 2003).

- ❖ **Bloqueo AV de 1° grado:** Se presenta cuando la conducción a través del nodo AV (sistema de conducción ventricular), se retrasa sin embargo todos los impulsos son conducidos y cumplen su ciclo (Nelson et al., 2000).

- ❖ **Bloqueo AV de 2° grado:** Se caracteriza por una conducción AV intermitente, donde algunas ondas P no son precedidas por un complejo QRS. Cuando muchas ondas P no son conducidas, el individuo tiene un bloqueo cardíaco de segundo grado (Nelson et al., 2000).

- ❖ **Bloqueo AV de 3° grado o completo:** Está presente cuando ningún impulso sinusal (o supraventricular), es conducido hacia los ventrículos. A menudo se observa un ritmo sinusal regular o una arritmia sinusal; sin embargo, las ondas P no están relacionadas con los complejos QRS, los cuales normalmente dan lugar a un ritmo de escape ventricular regular (Nelson et al., 2000).

4.4 MIOCARDIO

El **miocardio** (*mio*: músculo y *cardio*: corazón), es el tejido muscular del corazón, encargado de bombear la sangre por el sistema circulatorio mediante contracción. Posee una red abundante de capilares indispensables para cubrir sus necesidades energéticas y funciona involuntariamente, sin tener estimulación nerviosa, es un músculo miogénico es decir autoexcitable. (Cunningham and Hernández, 1999).

El musculo cardiaco está compuesto por un grupo de células llamadas miocitos cardiacos, que se caracterizan por ser físicamente las más energéticas del organismo y porque su contracción es independiente de la estimulación nerviosa (Cunningham and Hernández, 1999). Poseen un núcleo grande y oval situado en la parte central (Gardner and Hiatt, 2002; Woodcock and Matkovich, 2005) y se

caracterizan por la presencia de uniones terminales altamente especializadas, que se denominan discos intercalares. Estos tienen porciones transversales, en las que abundan fascias adherentes, desmosomas, así como uniones comunicantes o "gap junctions" que permiten el acople eléctrico así como el paso de pequeñas moléculas (<11 kDa) e iones (Hernández and Drucker, 2005).

Según Kumar, 2008, el corazón a nivel histológico puede presentar las siguientes alteraciones:

- ❖ Infiltrado Inflamatorio: Se trata de la migración de células blancas a un tejido, como mecanismo de reacción a la presencia de sustancias extrañas, los leucocitos reclutados son activados por el agente lesivo y por mediadores, producidos localmente e intentan eliminar a los invasores y deshacerse de los tejidos necróticos.
- ❖ Edema: Es un exceso de líquido en los tejidos. En la mayoría de los casos aparece sobre todo en el compartimiento del líquido extracelular, pero puede afectar también al líquido intracelular.
- ❖ Necrosis: Es la vía principal de muerte celular, se refiere a una serie de cambios, resultantes, en gran medida, a la acción degenerativa de enzimas sobre las células letalmente lesionadas, las cuales son incapaces de mantener la integridad de la membrana y sus contenidos con frecuencia salen al exterior. La necrosis se debe a daños patológicos como la isquemia, exposición a toxinas, diversas infecciones y traumatismos.

4.5 ENZIMAS CARDIACAS CK Y CK-MB

La creatincinasa (CK), es el marcador más utilizado en el diagnóstico de las alteraciones miocárdicas y del musculo esquelético, esta enzima universal se localiza en el citoplasma de la musculatura estriada (y otros tejidos), donde cataliza la fosforilación de la creatina a creatinfosfato. No es cardioespecifica y sus intervalos de referencia varían con la edad, raza, masa muscular y sexo (Vasudevan and Sreekumari, 2012).

La CK está compuesta por dos tipos de subunidades monoméricas, M (muscular) y B (cerebral), las cuales se combinan para formar tres isoenzimas distintas: CK-1 (BB), CK-2 (MB) y CK-3 (MM). La principal proporción de la actividad total de la CK se encuentra en los músculos esqueléticos y es predominante la isoforma CK-MM. En otros tejidos con niveles de creatina quinasa relativamente elevados que incluyen el miocardio, se encuentra la isoforma CK-MB, de la misma forma en el tracto gastrointestinal y el cerebro, prevalece la isoforma CK-1 (Vasudevan and Sreekumari, 2012).

La isoforma CK-MB, es un marcador que contribuye a mejorar la cardioespecificidad en cuanto a diagnóstico de alteraciones cardiacas y se ha convertido recientemente en el método de referencia del diagnóstico biológico de la necrosis, aunque en algunos casos sus niveles, pueden elevarse sin lesión miocárdica (heridas e inyecciones). Los valores de CK-MB masa en humanos, empiezan a detectarse en suero a partir de las 3-6 horas de inicio de alteraciones y permanecen elevados en un periodo de 36 a 72 horas (Vasudevan and Sreekumari, 2012). Debido a esta rápida elevación y caída puede utilizarse para detectar posibles daños como el infarto.

5. ANTECEDENTES

Teixeira y colaboradores en el 2001, estudiaron los efectos que causaba el veneno de *Tityus serrulatus* por medio de la técnica de corazón aislado de ratas Holtzman macho, analizando las alteraciones que se producían en la frecuencia cardiaca y la fuerza contráctil del corazón. Encontraron como resultado la presencia de bradicardia acentuada seguida de taquicardia. El veneno de ésta especie demostró claramente que los efectos cronotrópicos dependen de la liberación de neurotransmisores, pero los efectos inotrópicos no son dependientes. El aumento del neurotransmisor de contractibilidad puede ser una respuesta a la acción directa del veneno sobre los cardiomiocitos. Los autores sugirieron entonces que este efecto sobre el musculo cardíaco puede desempeñar un papel importante en el desarrollo de arritmias cardíacas y defectos en la contractibilidad después del envenenamiento por el veneno de *T. serrulatus*.

Cordeiro y colaboradores en el 2006, determinaron los efectos del veneno de *Tityus serrulatus*, en perros, usando 2 dosis diferentes: 1 dosis que simula el envenenamiento natural (0,4 mg/animal) y otra experimental (0,25 mg/Kg), evaluando parámetros como la presión arterial sistémica, niveles de la isoenzima CK-MB, exámenes radiográficos, electrocardiográficos y ecocardiográficos. En los resultados se encontró, que la dosis que se asemeja a la natural (0,4mg/animal), causó efectos leves, como ligero dolor en el lugar de la inoculación, postración y salivación, síntomas que desaparecieron entre 1 y 6 horas post-envenenamiento. Los estados hematológicos, pulmonares, cardíacos y la presión arterial no demostraron alteraciones notables. Con la dosis experimental (0,25 mg/Kg), se presentó intenso dolor en el lugar de la inoculación, postración, vómitos, diarrea, salivación y estornudos. El Análisis hematológico demostró un incremento considerable en el número de leucocitos. Los niveles de CK-MB se elevaron de

manera significativa y la evaluación electrocardiográfica evidenció alteraciones en la repolarización ventricular, señalando la presencia de lesión miocárdica. Otras pruebas relacionadas con el sistema cardiovascular no mostraron alteraciones relevantes.

Albornoz y colaboradores en el 2008, evaluaron el veneno del escorpión venezolano *Tityus nororientalis* en ratones hembra de las cepas de NMRI, BALBc y C57BL/6, determinando los efectos que se producían después de 60 minutos de exposición al veneno, entre los resultados se obtuvo un porcentaje de sobrevivencia del 50%, para cada una de las cepas evaluadas. Posterior a la aplicación del veneno, se evidenciaron síntomas como: hiperactividad seguida de sialorrea escasa y posteriormente piloerección. En el espectro medio de toxicidad, moderadamente grave (común para las tres cepas), ocurrió sialorrea abundante, temblores generalizados, defecación pastosa y convulsiones. Se eligió al azar un ratón sobreviviente, de cada cepa, para evaluar los cambios histopatológicos en el tejido miocárdico. Los análisis para las 3 cepas mostraron alteraciones del parénquima cardíaco con necrosis celular y gran congestión vascular. Las fibras revelaron la degeneración de sus citoplasmas y núcleos. En los citoplasmas se observaron fragmentos con pérdida de sus estriaciones y con presencia de estructuras de aparición granular de color rojizo, las cuales se observaron en menor cuantía en los vasos sanguíneos. Se detectó una dilatación y congestión vascular acentuada, también se presentaron grandes cambios de la estructura normal de los miocitos con ausencia de los elementos histológicos normales en muchas áreas. De este análisis se concluyó que todas las cepas estudiadas fueron severamente afectadas por la acción del veneno, aunque las cepas homocigóticas (BALBc y C57BL/6) mostraron una aparente mayor afectación.

Zayerzadeh y colaboradores en el 2010, realizaron un estudio, evaluando las alteraciones que produce el veneno del escorpión *Mesobuthus eupeus*, sobre el corazón y pulmón de conejos, estos fueron inyectados vía subcutánea con la dosis

letal media (DL50) (4,5mg/Kg peso corporal). Se realizaron pruebas de troponina (cTnT), CK, CK-MB, lactato deshidrogenasa, electrocardiogramas, medición de la respiración y tensión arterial. Los análisis electrocardiográficos presentaron elevación y depresión de la onda S, e inversión de las ondas de Q y T. Los niveles de cTnT aumentaron en el 16 % de los conejos y los niveles de LDH incrementaron también, aunque ninguno de estos cambios fue estadísticamente significativo, igualmente la isoenzima CK-MB no evidenció alteración. Todos los animales mostraron signos y síntomas de envenenamiento, muriendo entre los 40 minutos y las 3 a 3.5 horas post aplicación del veneno. Los estudios de patología revelaron la presencia de edema alveolar y pulmonar en un 100 %, e infarto de miocardio en el 16 % además de miocitolisis, necrosis coagulativa, hemorragia focal, infiltrado inflamatorio y la inflamación intersticial en los pulmones. Los resultados de este estudio mostraron que la severidad del veneno causó la muerte de los animales en menos de 3.5 horas de la inoculación, atribuyéndolo al daño pulmonar agudo y no a las lesiones cardiovasculares detectadas, infiriendo que los efectos del veneno sobre los pulmones son tan importantes y parecen ser independientes del daño del corazón.

Pinto y colaboradores en el 2010, realizaron un estudio utilizando el veneno del escorpión brasileiro *Tityus serrulatus*, evaluando sus efectos en el sistema cardiorrespiratorio de ratas Wistar macho recién destetadas. Se realizaron registros electrocardiográficos antes y después de la aplicación del veneno; los resultados mostraron que todos los animales experimentales presentaban alteraciones en el ECG compatibles con el desequilibrio electrolítico, miocarditis, las alteraciones del sistema de conducción cardíaca y acentuaron la bradicardia a los 25 y 30 minutos después de la inoculación del veneno. Además se evaluaron otros parámetros como la elevación de enzimas cardíacas CK y CK-MB, que tuvieron un aumento significativo. Por último se analizó el tejido cardíaco y no se detectaron lesiones. La elevación de las enzimas cardíacas comprueba que el veneno del escorpión *Tityus serrulatus* produce efecto a nivel cardíaco y en

pulmón debido a que en el análisis microscópico fue detectada hemorragia pulmonar por la presencia de tubos capilares congestionados y eritrocitos en parénquima alveolar.

En el mismo año, Pinto evaluó el envenenamiento causado por el escorpión del estado de Minas Gerais (Brasil), *Tityus fasciolatus* en ratas juveniles. Los Exámenes electrocardiográficos mostraron desequilibrio electrolítico, miocarditis e interferencia del veneno en el tejido de conducción. Las pruebas de isoenzimas cardiacas evidenciaron daño miocárdico con altos niveles de CK, CK-MB y LDH. La evaluación microscópica del corazón no presentó alteraciones morfológicas pero en pulmón si se observaron lesiones agudas.

Riveiro y colaboradores en el 2010, reportaron los efectos del veneno de *Tityus serrulatus* en perros, evaluando el perfil bioquímico en sangre y orina, analizando los niveles de glucosa, urea, creatinina, proteína total, potasio, alanina aminotransferasa (ALT), aspartato aminotransferasa (AST), creatin-kinasa (CK), lactato deshidrogenasa (LDH), amilasa e insulina. No se encontraron alteraciones significativas en la orina después del envenenamiento. El aumento de los niveles de cortisol en suero encontrado en los animales del grupo experimental, coincidió con la aparición de hiperglicemia y una probable respuesta al dolor. El incremento de insulina fue observado durante los picos de hiperglicemia. Los perros envenenados presentaron aumentos discretos de ALT, AST Y CK, pero no se observó ninguna alteración en LDH, amilasa, cTnl, la urea, creatinina ni en los niveles de K⁺.

Morales y colaboradores en el 2011, determinaron el efecto neurotóxico y antimicrobiano, del veneno del escorpión *Tityus sp.* Fueron administradas 3 concentraciones de veneno diferentes (25%,50%,75%) de la DL₅₀, para evaluar el efecto sobre la contracción del musculo gastrocnemio del anfibio *Rhinella marina*. Para la actividad antimicrobiana, se aplicaron 8 concentraciones diferentes del

veneno, sobre 3 cepas bacterianas (*P. aeruginosa*, *E. coli* y *S. aureus*) y 3 cepas fúngicas (*C. albicans*, *C. krusei* y *C. neoformans*). Se presentó mayor alteración para la contracción muscular en la dosis del 50% y una mayor actividad antifúngica comparada con la actividad antimicrobiana.

Izquierdo y Rodríguez en el 2012, presentaron un caso de picadura por escorpión, en un niño de 12 años, habitante del municipio de Tolemaida, Tolima-Colombia, que fue picado por el escorpión *Tityus pachyurus* sobre su muslo derecho. El niño presentó signos intensos y síntomas en el lugar de la picadura, posteriormente desarrolló edema pulmonar y alteraciones cardiovasculares que le produjeron taquicardia ventricular y paro cardíaco, los exámenes de laboratorio mostraron una elevación significativa en los niveles enzimáticos de CK, CK-MB, y troponina, también hubo una disminución en los niveles de Ca^{+2} ionizado y una elevación leve de glicemia. Le fue aplicada una dosis de suero antiescorpionico reaccionando favorablemente, después de 5 días de trauma se trasladó al hospital general y finalmente fue dado de alta.

6. OBJETIVOS

6.1 OBJETIVO GENERAL

- ❖ Determinar la actividad cardiotoxica producida por el veneno total del escorpión *T. sp*, en ratas WISTAR (*Rattus norvegicus*).

6.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- ❖ Identificar las alteraciones electrocardiográficas causadas por el veneno total del escorpión *T. sp* en ratas WISTAR (*Rattus norvegicus*), aplicado vía intraperitoneal, por medio de registros electrocardiográficos.
- ❖ Evaluar las alteraciones producidas por el veneno del escorpión *T. sp*, en los niveles de las enzimas cardiacas CK y CK-MB.
- ❖ Determinar los daños generados por el veneno del escorpión *T. sp* en el tejido cardiaco de ratas WISTAR (*Rattus norvegicus*).

7. MATERIALES Y MÉTODOS

7.1 COLECTA DE ESCORPIONES

La colecta de escorpiones se realizó en el municipio de Popayán (Cauca), específicamente en el Puente del Humilladero y lugares aledaños al Río Molino y al Río Chune. Los muestreos se realizaron en horas de la noche, debido a los hábitos nocturnos de estos artrópodos. Para la obtención de los animales se utilizó lámpara de luz negra para su detección, pinzas metálicas y tarros plásticos que sirvieron como terrarios.

7.1.1 Mantenimiento de los escorpiones

En total se capturaron 30 especímenes (10 por muestreo), fueron trasladados al Centro de Investigaciones Biomédicas de la Universidad del Cauca (CIBUC), ubicado en la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad del Cauca. Para el mantenimiento, los escorpiones se distribuyeron individualmente en pequeñas cajas de plástico que contenían un pedazo de panal de huevo y un algodón con agua, allí fueron cuidados y alimentados hasta el momento del desvenenamiento, teniendo en cuenta la humedad relativa y temperatura del lugar.

7.1.2 Extracción del veneno

El veneno se obtuvo por el método de estimulación eléctrica del quinto segmento del metasoma, donde se ubica la glándula del veneno, utilizando para la extracción el generador de impulsos eléctricos Square Wave Stimulator 1999 (82415IS *Lafayette instrument company*), el metasoma de cada escorpión fue inmovilizado por medio de pinzas metálicas, ubicando su aguijón dentro del tubo

Eppendorf® (1,5 ml para recoger el veneno). Después del impulso eléctrico, las glándulas son estimuladas y liberan el veneno por el agujón.

7.1.3 Procesamiento del veneno

Se limpió el veneno con agua destilada, vorterezándose hasta quedar en una sola fase, posteriormente se centrifugó a 15000 rpm, por 15 minutos a 8°C para separar el sobrenadante del pellet, por último fue congelado a (-80°C), liofilizado y guardado a (-20°C), hasta su utilización.

7.2 TIPO DE ESTUDIO

Es un estudio experimental *in-vivo* en el que se emplearon ratas WISTAR (*R. norvegicus*), a las cuales se les aplicó vía intraperitoneal diferentes dosis subletales (80%, 40% y 20%) de la DL₅₀ del veneno del escorpión *T. sp*, evaluando el efecto cardiaco por medio de parámetros electrocardiográficos, enzimáticos e histológicos.

7.3 ANIMALES EXPERIMENTALES

Para la realización de este estudio, se utilizaron ratas WISTAR macho (*R. norvegicus*), de peso 200g (+/- 20g), suministradas por el Centro de Investigaciones Biomédicas de la Universidad del Cauca, lugar donde fueron mantenidas en condiciones de control de variables ambientales, suministro de agua y alimento *ad libitum*.

7.4 DISEÑO EXPERIMENTAL

Se empleó un diseño experimental completamente aleatorio, en el cual se utilizaron 16 ratas WISTAR macho (*R. norvegicus*), homogéneas en cepa, edad,

peso y sexo, las cuales fueron distribuidas aleatoriamente en 4 grupos de 4 individuos cada uno (1 grupo control y 3 grupos experimentales). En cada bloque se utilizó un individuo como control y tres experimentales como se muestra en la tabla 1:

Tabla 1. Aplicación de los tratamientos por bloque.

INDIVIDUO	CONCENTRACIÓN DE SUSTANCIA APLICADA	CANTIDAD	VÍA APLICACIÓN
Rata 1	Sin salina 0,9%	300µL	Intraperitoneal
Rata 2	80% de la DL ₅₀ del veneno.	300µL	Intraperitoneal
Rata 3	40% de la DL ₅₀ del veneno.	300µL	Intraperitoneal
Rata 4	20% de la DL ₅₀ del veneno.	300µL	Intraperitoneal

Para el análisis estadístico se utilizó el programa BioEstat versión 5.3, los análisis se realizaron por contraste de hipótesis, con previo estudio de ajuste a la curva normal. Los gráficos se elaboraron con el programa GraphPad Prism versión 5. En la siguiente tabla, se referencian las pruebas estadísticas aplicadas para cada alteración:

Tabla 2. Estadística de las pruebas aplicadas.

PARAMETRO	ALTERACIÓN	PRUEBA ESTADISTICA	PRUEBA COMPLEMENTARIA
ELECTROCARDIOGRAFÍA	Frecuencia cardiaca	ANOVA 1 vía	Tukey

PARAMETRO	ALTERACIÓN	PRUEBA ESTADISTICA	PRUEBA COMPLEMENTARIA
	Extrasístole ventricular	Chi- Cuadrado	Partición LxC
	Fibrilación auricular	Chi- Cuadrado	Partición LxC
	Intervalo P-R bloqueo AV 1°	Kruskal-Wallis	Dunnet
	Intervalo P-R bloqueo AV 2°	Kruskal-Wallis	Dunnet
	Intervalo P-R bloqueo AV 3°	Kruskal-Wallis	Dunnet
ENZIMAS CARDIACAS	Enzima CK	ANOVA 1vía	Tukey
	Isoenzima CK-MB	Kruskal-Wallis	Dunnet
ALTERACIONES HISTOLÓGICAS	Infiltrado inflamatorio	Chi-Cuadrado	Partición LxC
	Edema	Chi-Cuadrado	Partición LxC
	Necrosis	Chi-Cuadrado	Partición LxC

7.5 REGISTROS ELECTROCARDIOGRÁFICOS

Para tomar los electrocardiogramas los animales fueron sedados con *Zoletil®* de Virbac, (50mg/Kg), con refuerzo, utilizando un equipo polígrafo Powerlab de ADInstruments, de 6 canales, mediante las derivaciones bipolares de plano frontal DI, DII, DIII y las derivaciones unipolares AVR, AVL, AVF.

En cada individuo se tomaron 4 registros de 5 minutos c/u, los cuales se efectuaron de la siguiente forma:

- ❖ Registro 1: Antes de la inoculación del veneno.
- ❖ Registro 2, 3 y 4 cada hora posterior a la inoculación del veneno.

- ❖ Para el control se tomaron los mismos registros antes y después de la aplicación de solución salina 0,9%.



Figura 4. Distribución de los electrodos en las extremidades la rata (*R. norvegicus*).

7.5.1 Lectura de registros electrocardiográficos.

Para la lectura e interpretación de los registros, se utilizó el software Chart 5, en la derivación DII, debido a que permite apreciar mejor las ondas electrocardiográficas y evaluar si existe o no un ritmo sinusal (Escobar, 2003). En el análisis se tuvieron en cuenta los siguientes aspectos:

- ❖ Variación de la frecuencias cardiaca: se tomaron 20 ciclos cardiacos por cada registro de las ratas a las cuales les fue aplicado veneno así como de las ratas control, los valores fueron organizados según la dosis para el respectivo análisis estadístico.
- ❖ Para el análisis de las fibrilaciones auriculares y las extrasístoles ventriculares se tuvo en cuenta: el número de animales por dosis que presentó este tipo de arritmia.

- ❖ Para el análisis de los bloqueos cardiacos se tuvieron en cuenta, los registros que presentaron bloqueos de primer, segundo y tercer grado. En el lugar del registro donde se hallaban estos, se realizaron las mediciones del intervalo P-R, eligiendo por cada registro un segmento de 10 ciclos, midiendo en cada ciclo del segmento la duración en segundos del intervalo desde el inicio de la onda P hasta el inicio de la onda Q. Las mediciones se hicieron tanto para las ratas tratadas con el veneno como para los controles.

7.6 DETERMINACIÓN DE NIVELES DE ENZIMAS CARDIACAS CK Y CK-MB

Luego de hacer el último registro electrocardiográfico de cada animal, 3 horas post inoculación de veneno, se realizaron las respectivas cirugías, iniciando por la parte ventral, retirando la piel e introduciendo en el tórax la tijera para la cirugía haciendo una disección hasta llegar al cuello. Se tomó una muestra de sangre de la vena cava descendente, ubicada entre el corazón y el hígado, con un yelco de 20G, la sangre se recogió en tubos separadores de suero marca Vacutainer® SST™, tapa amarilla de 13 x 75mm, vacío 2,5 ml, que contiene un gel separador inerte en el fondo del tubo para acelerar el proceso de coagulación, facilitando la separación entre el suero y el contenido celular. Las muestras se dejaron reposar a temperatura ambiente por 30 minutos, tiempo necesario para la formación de coágulo, pasado este tiempo, se centrifugaron durante 12 minutos a 3000 rpm, el suero fue extraído y depositado en tubos de ensayo y para diluirlo se agregaba una pequeña dosis de agua destilada (μL). La lectura de las muestras se efectuó mediante proceso de succión para lo cual se empleó el equipo BTS-310 marca Byosystems.

7.7 HISTOLOGÍA

El corazón de cada rata fue extraído, se limpió con solución salina al 0,9% para evitar restos de sangre en tejido y fue dividido transversalmente en 3 partes, que fueron depositadas en una rejilla respectivamente rotulada.

La fijación se realizó durante 48 horas en formol buferado al 10%, continuando con la fase de deshidratación en alcoholes ascendentes de la siguiente manera: 3 alcoholes del 96% (1 hora por c/u), 5 alcoholes absolutos (1 hora c/u). El aclaramiento se hizo en dos baños de xilol (1 hora por c/u). La infiltración del tejido se dividió en 2 secciones de parafina (59°C – 60°C), (1 hora c/u), transcurrido este tiempo se procedió a la inclusión en parafina comercial. Las muestras fueron cortadas de 3 a 4 µm y puestas en portaobjetos para el proceso de tinción.

Para la tinción se empleó la coloración nuclear Hematoxilina – Eosina. Cada placa fue remojada en Xilol (15 remojos), 2 alcoholes absolutos (8 remojos c/u), 1 alcohol 90% (8 remojos) y agua a chorro. Posteriormente se hizo un baño en hematoxilina (6 min), agua a chorro, alcohol ácido 0,5% (1 remojo), agua, carbonato de litio (10 seg), eosina (30 segundos), agua a chorro, posteriormente en alcoholes ascendentes, 96% (3 remojos), 2 alcoholes 100% (8 remojos c/u) y por ultimo 2 baños en xilol, (8 remojos c/u).

8. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

8.1 CLASIFICACIÓN DE LA SINTOMATOLOGÍA.

Según Khattabi y colaboradores en el 2011, los signos y síntomas causados por la picadura de escorpión se pueden clasificar en tres categorías:

Tabla 3. Clasificación de la sintomatología (signos y síntomas), producidos por la picadura de escorpión, según la severidad.

Clase I: Manifestaciones locales	Clase II: Manifestaciones menores		Clase III: Manifestaciones severas
Erupción	Distensión abdominal	Nausea	Falla cardiaca
Sensación de ardor	Agitación	Nistagmus	Hipotensión
Equimosis	Anisocoria	Odinofagia	Arritmia ventricular
Eritema	Artralgia	Palidez	Bradycardia
Hiperestesia	Ataxia	Pancreatitis	Colapso cardiovascular
Picazón	Confusión	Priapismo	
Necrosis	Convulsión	Parestesia general	Falla respiratoria
Parestesia	Diarrea	Postración	Cianosis
Dolor	Distonia	Ptoxis	Disnea
Hinchazón	Encefalopatía	Rinorrea	Edema pulmonar
Hormigueo	Fasciculación	Sialorrea	
	Hemorragia gastrointestinal	Somnolencia	Falla neurológica
	Hematuria	Estridor	Parálisis
	Dolor de cabeza	Sudación	
	Hipertensión	Taquicardia	
	Hipotermia	Sed	
	Lagrimeo	Retención urinaria	
	Calambres musculares	Vomito	
	Miosis	Sibilancias	
	Midriasis		
	Mioclona		

Fuente: Tomado del artículo, Classification of clinical consequences of scorpion stings: consensus development, Khattabi et al., 2011.

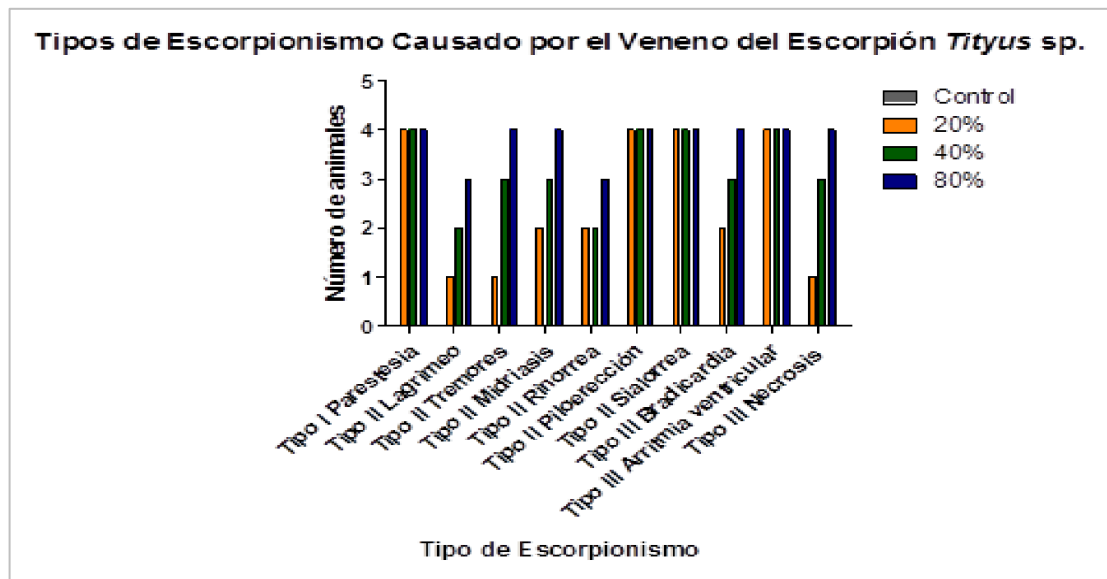


Figura 5. Análisis de Chi – cuadrado de la sintomatología presentada por las ratas durante la inoculación con el veneno de *T. sp.*

Durante la inoculación del veneno de *T. sp.*, las ratas presentaron los siguientes signos y síntomas: clase I, parestesia; dentro de la sintomatología clase II lagrimeo, tremor, midriasis, rinorrea y piloerección; de la clase III se presentó bradicardia, arritmia ventricular y necrosis (Figura 5). Al analizar estadísticamente la presencia o ausencia de la sintomatología, se encontró significancia estadística (p -valor= 0,0001), entre los grupos inoculados con el veneno, es decir, que la sintomatología presentada es dependiente de las dosis de veneno aplicadas. Las ratas tratadas con el del 80%, presentaron una sintomatología más acentuada, comparada con la de las ratas inoculadas con el 40% del veneno. Las inoculadas con el 20% presentaron sintomatología leve. Parestesia, piloerección, sialorrea y arritmia ventricular fueron los síntomas que se manifestaron en mayor proporción, mientras que el lagrimeo y la rinorrea los de menor proporción.

Según, Gueron y colaboradores en 1991, las manifestaciones clínicas observadas, pueden agruparse en: tipo colinérgico (vómitos, dolor abdominal, sialorrea, náuseas, diaforesis, bradicardia sinusal, hipotensión arterial, bradipnea, broncoespasmo, diarrea, miosis, parestesias, calambres, disartria, fasciculaciones

musculares) y las de tipo adrenérgico (prurito nasal, palidez cutánea, frialdad de extremidades, piloerección, taquicardia sinusal, hipertensión arterial, taquipnea, priapismo, midriasis. Existe coincidencia al comparar la sintomatología anterior con la del presente estudio, en los síntomas como parestesia, piloerección y bradicardia, lo que indica que los síntomas presentados en la figura anterior son de los dos tipos, pero inclinándose más hacia la sintomatología colinérgica, corroborando los resultados presentados más adelante sobre la estimulación parasimpática provocada por el veneno.

Estudios anteriores corroboran este tipo de sintomatología, por ejemplo Cordeiro y colaboradores en el 2006, realizaron un estudio en perros tratados con el veneno de *T. serrulatus*, que presentaron sialorrea, vómitos, diarrea, estornudos y postración, coincidiendo con los estudios realizados por (Cupo et al., 1994; Freire-Maia et al., 1994) que también reportan la aparición de síntomas como vómitos, postración, temblores diarrea y salivación excesiva. Gómez (2010), encontró que el veneno de *T. astheness* provoca taquipnea, vomito taquicardia, sialorrea, bradicardia y ataxia.

Según Pinto, 2010, la sintomatología por picadura de escorpión, se debe a las manifestaciones clínicas de envenenamiento escorpiónico atribuidas a la acción de veneno sobre los canales iónicos de las membranas neuronales y la liberación subsecuente de neurotransmisores, sobre todo de catecolaminas en los terminales nerviosos autonómicos; estas liberaciones adrenérgicas y colinérgicas producen una respuesta sistémica que es caracterizada por el incremento en los niveles de diferentes mediadores inflamatorios.

8.2 ANÁLISIS ELECTROCARDIOGRÁFICO

8.2.1. Variaciones de la frecuencia cardiaca

Posterior a la aplicación del veneno se observaron los siguientes resultados en la frecuencia cardiaca de las ratas control y las que fueron tratadas con el veneno de *T. sp.*

Tabla 4. Frecuencia cardiaca expresada en latidos por minuto (lpm), para el grupo control y los tratamientos con el veneno de *T.sp.*

CONTROL (lpm)	20% DL50 (lpm)	40% DL50 (lpm)	80%DL50 (lpm)
339	321	346	273
356	334	364	273
361	362	377	304
411	392	401	384
459	336	365	374
476	373	376	311
426	387	390	275
347	342	358	297
358	367	416	366
461	390	441	399
467	394	433	
480	397	476	

Los valores faltantes en la tabla anterior en la dosis del 80%, se justifican por la muerte de 2 de las ratas de este grupo a las 2 horas de la aplicación del veneno, por lo tanto no fue posible tomar los registros de la tercera hora para estos dos animales.

Al analizar estadísticamente los datos de frecuencia cardiaca (tabla 1), se encontró diferencia significativa (p -valor= 0.0003), entre el grupo control y los tratamientos. Presentando mayor diferencia ($p < 0,01$) entre el control y la dosis del

80% y entre la del 40% y la del 80% ($p < 0,01$), entre la del 20%, 40% y el grupo control, no se encontró significancia estadística (Figura 6). Los controles evidencian un aumento discreto de la tarifa cardíaca posiblemente causado por la aplicación del sedante o por estrés del animal, estimulando así el sistema nervioso simpático, produciendo un efecto de cronotrópico positivo; mientras que en las diferentes dosis se observa una disminución de la frecuencia cardíaca especialmente en la dosis más alta (80%), lo que indica que el veneno produce alteraciones en la frecuencia cardíaca, proporcionando un efecto cronotrópico negativo en el corazón.

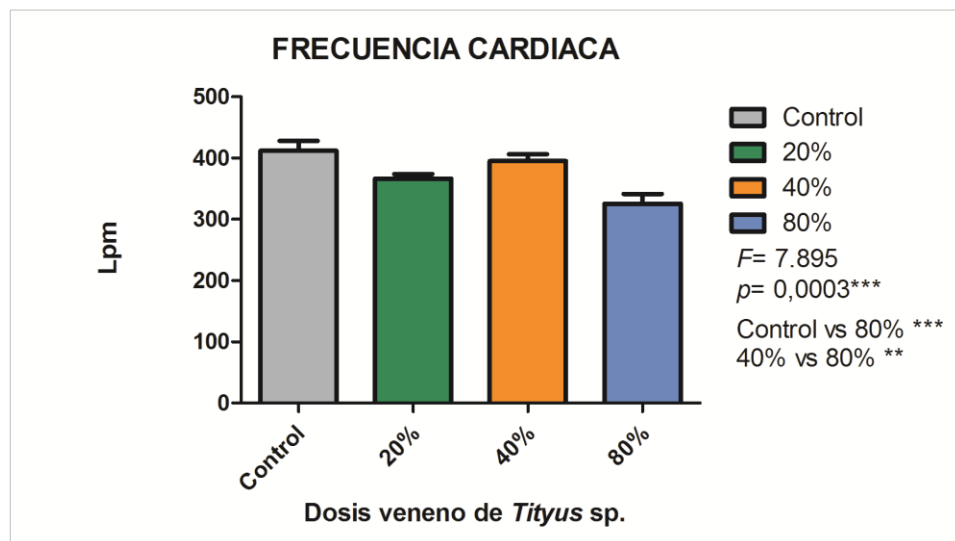


Figura 6. Análisis de ANOVA de 1 vía para la frecuencia cardíaca presentada por las ratas en el grupo control y las dosis (20%, 40%, 80%), post-inoculación del veneno de *T. sp.*

El veneno de escorpión es una mezcla compleja de péptidos de cadena corta y larga, asociados con mucopolisacaridos y pequeñas cantidades de hialuronidasas y neurotoxinas (Gazarian et al., 2005). El mecanismo de acción de las toxinas implica alteraciones en los canales iónicos de las membranas neuronales y la liberación de neurotransmisores de los terminales de nervios postganglionares.

Algunas toxinas actúan sobre los canales iónicos de Na^{+1} , alterando la activación o inactivación de estos, afectando la entrada de Na^{+1} por los canales de sodio voltaje dependiente y no dependiente, mientras que otras obstruyen los canales de potasio e impiden la entrada de este ion a la célula, causando así, su acumulación en el medio extracelular, el resultado de esta acción es la despolarización de la membrana, seguido de un potencial de acción y la liberación masiva de neurotransmisores, acetilcolina, noradrenalina y adrenalina (Ismail, 1995).

En este caso la bradicardia pudo haber sido ocasionada por lo que proponen algunos autores como Cheikh et al., 2006; Pinto et al., 2010; Zayerzadeh et al., 2010, sobre la liberación de acetilcolina que desencadena el veneno sobre las células, la acetilcolina tiene la capacidad de desacelerar la despolarización espontánea de la célula, porque frena el decremento espontáneo de la permeabilidad para el potasio, este neurotransmisor hace que se necesite más tiempo para que las células del marcapaso lleguen al umbral, de manera que existe un tiempo más prolongado entre los latidos cardiacos (Cunningham and Hernández, 1999).

Según Teixeira, 2001, la hipercalcemia es uno de los efectos del escorpionismo, que contribuye a la aparición de la bradicardia debido a que deprime la conducción cardiaca. Además de otras alteraciones como el desequilibrio hemodinámico, bloqueos auriculo-ventriculares y ritmo de fuga, que causan la inhibición de la célula o la inactividad de la unión AV, provocando un retardo en la conducción de los impulsos, motivo por el cual el corazón reacciona activando los marcapasos secundarios que trabajan a una frecuencia más baja (Escobar, 2003; Pinto et al., 2010b). Estudios previos han demostrado que el veneno de las especies del género *Tityus* provoca este tipo de alteración (Cunningham and Hernández, 1999; Escobar, 2003; Pinto et al., 2010b; Teixeira Jr and Teixeira, 2003; Yatani et al., 1988).

8.2.2. Arritmias cardiacas.

8.2.2.1. Extrasístoles.

❖ Extrasístoles ventriculares

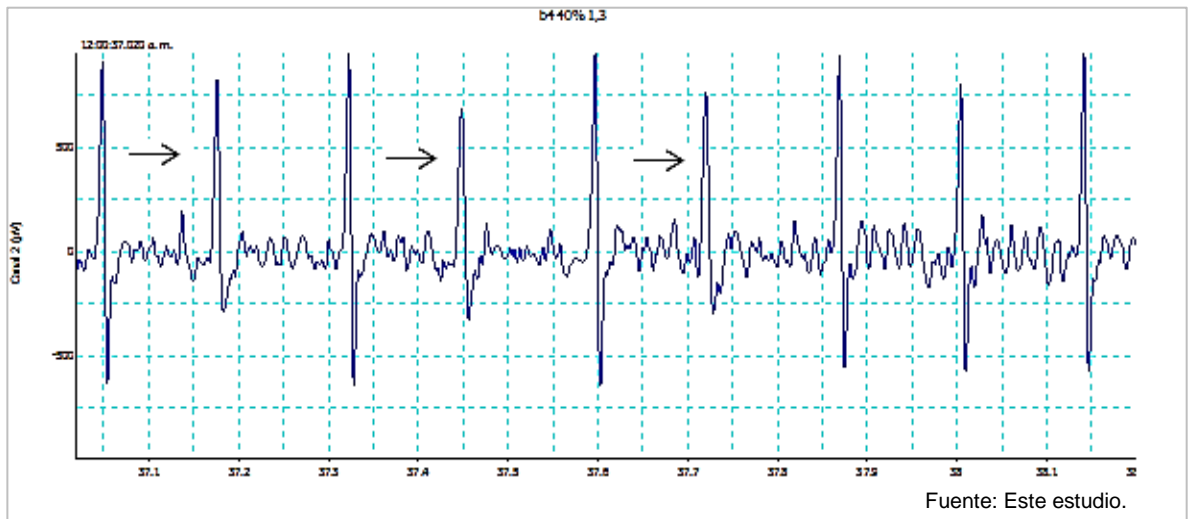


Figura 7. Registro electrocardiográfico de rata (*R. norvegicus*), en la derivación II, con extrasístoles ventriculares.

En la anterior figura, se muestra uno de los registros electrocardiográficos con extrasístoles ventriculares, en el que se presentan, ciclos cardiacos con complejos QRS normales, ondas P y T irregulares difíciles de identificar y las extrasístoles ubicadas en la parte intermedia de cada ciclo.

Al realizar el análisis estadístico para las extrasístoles ventriculares, se encontró significancia estadística (p -valor 0,011), indicando que hay una dependencia entre esta alteración y las dosis del veneno. Las extrasístoles se presentaron en todas las ratas tratadas de cada una de las dosis aplicadas (80%,40% y 20%) (Figura 8).

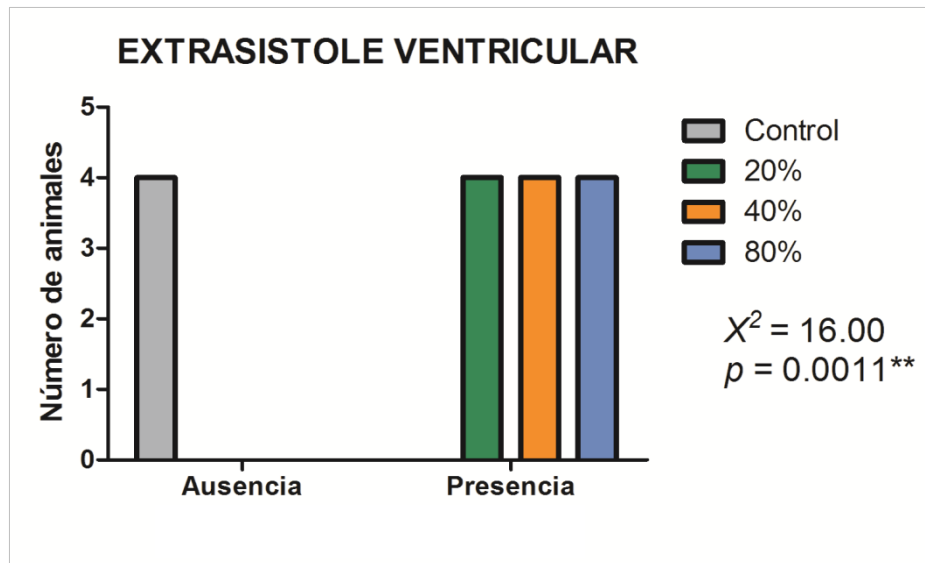


Figura 8. Análisis de Chi-Cuadrado del número de animales que presentaron extrasístoles ventriculares en los registros electrocardiográficos, por dosis de veneno.

Según Escobar, 2003, entre las posibles explicaciones de la formación de una extrasístole ventricular se encuentran las teorías del aumento de automatismo y la llamada reentrada.

La teoría del aumento del automatismo propone que una alteración de cualquier tipo de un grupo celular, puede hacer que el potencial de reposo se acerque al de tiro, y por lo tanto facilite la producción de una despolarización ectópica; sin embargo, se puede generar también una extrasístole ventricular a causa de un aumento del automatismo, pues ciertas condiciones como la hipoxia y la hipokaliemia que son efectos del envenenamiento escorpiónico (Pinto et al., 2010b), hacen que la tercera fase del potencial de acción descienda o baje provocando así una despolarización espontánea.

Según Escobar, 2003, la teoría de la reentrada supone que un impulso normal llega a una bifurcación cualquiera de la pared del ventrículo, en una de las ramas se presenta un bloqueo incompleto y se conduce muy lentamente por allí, luego de

la conducción incompleta se encuentra con un canal anastomótico, que le permite llegar a la rama normal, pero tan tarde que la fibra normal ya está recuperada de su estado refractario, lista para otro impulso; en este caso el veneno pudo haber producido el bloqueo en las ramas de Haz de Hiss lo que no impidió el paso del impulso normal generándose así la extrasístole.

Este tipo de alteración ha sido encontrada en varios estudios (Cupo et al., 1994; Freire-Maia et al., 1994; Pinto et al., 2010a; Pinto et al., 2010b; Teixeira Jr et al., 2001), coincidiendo en que los principales hallazgos electrocardiográficos descritos en la literatura para pacientes o experimentos *in-vivo*, después de la picadura o administración de veneno escorpiónico son: taquicardia sinusal con extrasístoles ventriculares, depresión del segmento ST y el bloqueo aurículo-ventricular, los cuales se deben a desequilibrios electrolíticos causados por el propio veneno del escorpión. Los principales trastornos electrolíticos descritos en asociación con escorpionismo son hiperkaliemia e hipocalcemia (Ismail, 1995; Murthy, 2000).

8.2.2.2. Taquiarritmias.

- Taquiarritmias supraventriculares.
- ❖ Fibrilación Auricular.

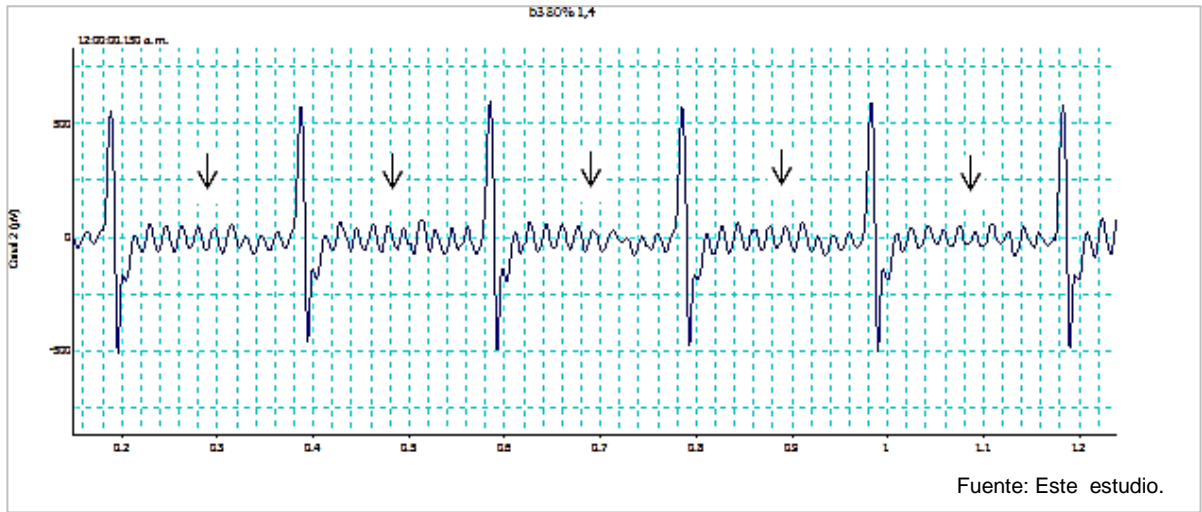


Figura 9. Registro electrocardiográfico de rata (*R. norvegicus*), en la derivación II con fibrilaciones auriculares.

En la figura 9, se evidencia uno de los registros electrocardiográficos que presenta fibrilaciones auriculares, con ritmo sinusal, complejo QRS normal y pérdida de las ondas P y T.

Después de aplicar el análisis para las fibrilaciones auriculares, se encontró significancia estadística (p -valor= 0,0011), es decir, que existe una relación de dependencia entre la presencia de fibrilaciones auriculares y las dosis de veneno aplicado. Las fibrilaciones auriculares en este caso se presentaron en todas las ratas expuestas a todas las dosis de veneno (80%,40% y 20%). (Figura 10).

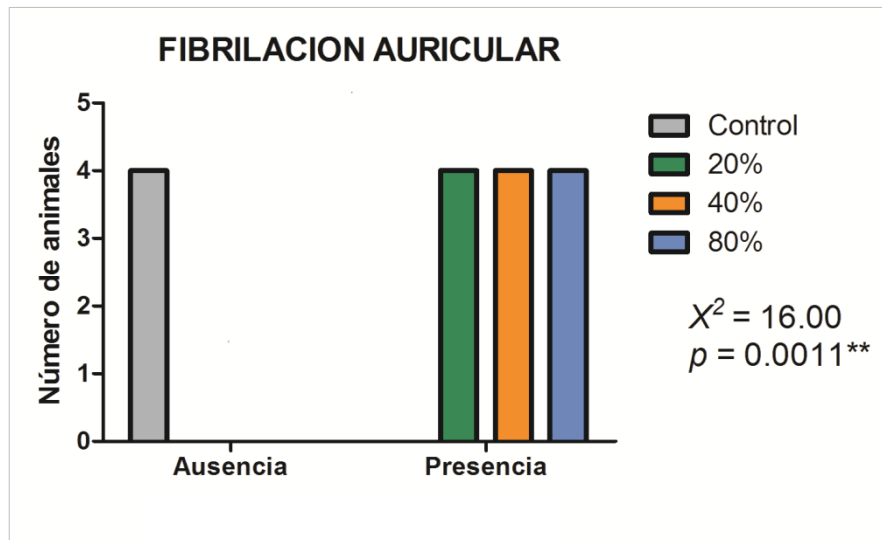


Figura 10. Análisis de Chi-Cuadrado del número de animales que presentaron fibrilaciones auriculares en los registros electrocardiográficos, por dosis de veneno.

En los casos de fibrilación auricular, el ritmo cardiaco se interrumpe por completo y la actividad eléctrica en la aurícula se vuelve caótica. Los impulsos eléctricos se transmiten de manera intermitente por las partes superiores del sistema de conducción lo que da como resultado un latido cardiaco anormal, originando que la aurícula pierda la actividad eléctrica organizada y fibrile (Richardson, 2004).

Una de las posibles explicaciones sobre los efectos del veneno en la formación de las fibrilaciones auriculares podría ser una abreviación progresiva del potencial de acción y de los períodos refractarios efectivos auriculares, causados por las alteraciones de las corrientes iónicas (remodelación eléctrica) (Sampó, 2005). El veneno pudo haber actuado en la apertura y cierre de los canales iónicos (Cheikh et al., 2006; Morales, 2013) provocando así dichas alteraciones, ya que se ha comprobado que dentro de sus componentes más letales están las α y β toxinas; cuyos blancos moleculares son los canales de Na^{+1} y Ca^{+2} en las membranas excitables; modificando los mecanismos de permeabilidad iónica fundamentales

para la homeostasis celular de varios órganos y sistemas (Barona et al., 2006; Becerril et al., 1995; Becerril et al., 1997).

La hipervagotonía podría ser otra de las razones que contribuye a la generación de este tipo de arritmias, ya que el sistema nervioso autónomo puede disparar la fibrilación auricular a través del incremento del tono vagal o parasimpático (Sampó, 2005), el cual pudo haber sido estimulado por el veneno, pues, se ha demostrado que este causa la liberación de neurotransmisores como la acetilcolina que provoca un efecto inotrópico y cronotrópico negativo directo sobre los miocitos de rata (McMorn et al., 1993), permitiendo así el estímulo del sistema nervioso parasimpático.

El veneno también pudo haber influido en el potencial de acción de las células del miocardio, produciendo una despolarización espontánea logrando la formación de un foco ectópico (Cunningham and Hernández, 1999), al producir un desorden electrolítico que por lo general tienen descargas rápidas, o generando la despolarización en el periodo vulnerable (comienzo de la fase 3 del potencial de acción) donde según Escobar (2003), se pueden desencadenar arritmias cardíacas.

- Taquiarrimias ventriculares.
- ❖ Fibrilación Ventricular.

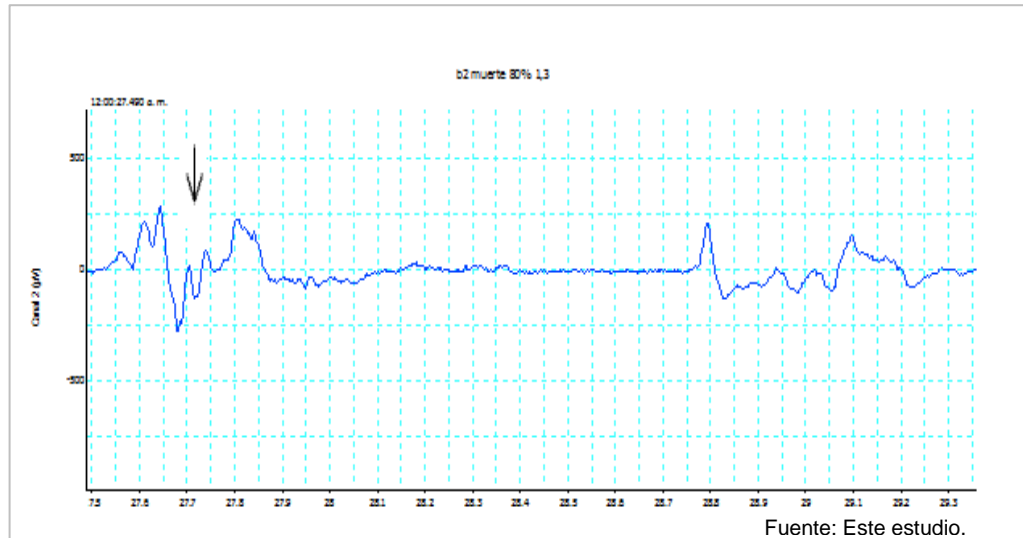


Figura 11. Registro electrocardiográfico de rata (*R. norvegicus*), en la derivación II, con fibrilación ventricular.

En el registro anterior se presentan fibrilaciones ventriculares de ritmo irregular con las ondas P, T y complejo QRS deformes, sin evidenciar los ciclos cardiacos. (Figura 11). Estas fibrilaciones se detectaron en un solo registro de una rata tratada con la dosis del 80% de la DL_{50} , por lo tanto, se infiere que posiblemente se trató de una respuesta individual del animal, que tal vez fue el más susceptible en cuanto a peso y defensas corporales, pero también pudo ocasionarse por la dosis de veneno aplicada que para este caso es la de mayor concentración desarrollado así este tipo de arritmia.

8.2.2.3 Bradiarritmias.

❖ Bloqueo Auriculo-Ventricular de primer grado

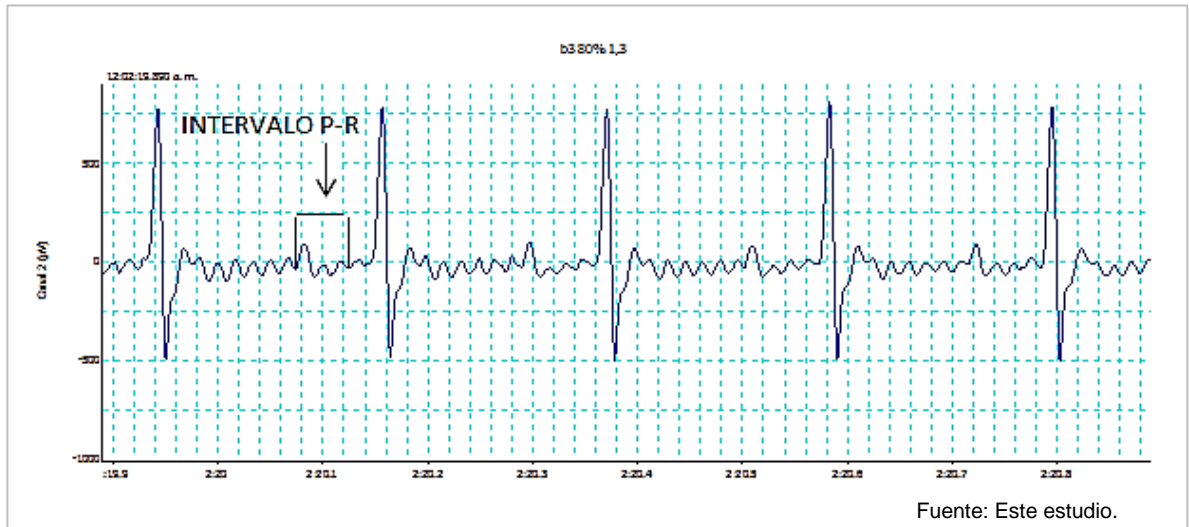


Figura 12. Registro electrocardiográfico de rata (*R. norvegicus*), en la derivación II, con bloqueo auriculo-ventricular de primer grado.

El registro anterior presentan bloqueos auriculo-ventriculares de primer grado con un ritmo sinusal, ondas P, T y complejo QRS normal, pero con un alargue entre el inicio de la onda P hasta el inicio de la onda Q, donde se da el bloqueo (Figura 12).

Para los valores del intervalo P-R se encontró significancia estadística (p -valor=0.0432), es decir, que existe diferencia significativa entre la duración del intervalo P-R del grupo control y la duración del mismo con las dosis de veneno. El grupo control y la dosis del 80% presentaron una significancia de (p -valor=0,0060), y entre el grupo control y la dosis del 40% la significancia fue de (p -valor=0,0450), se deduce entonces que el veneno de *T.sp*, causa alteración en la duración de los intervalos P-R de las dosis de veneno de mayor concentración (40% y 80%), se infiere además que el bloqueo tuvo una mayor duración en la dosis del 80%, la del 40% presentó bloqueo pero de menor duración, de igual manera se puede afirmar

que a mayor concentración de veneno se producirá un mayor retardo en la conducción de los impulsos eléctricos de un nodo a otro, viéndose representado en el alargamiento de este intervalo. Para la dosis del 20% no se encontró significancia estadística (Figura 13).

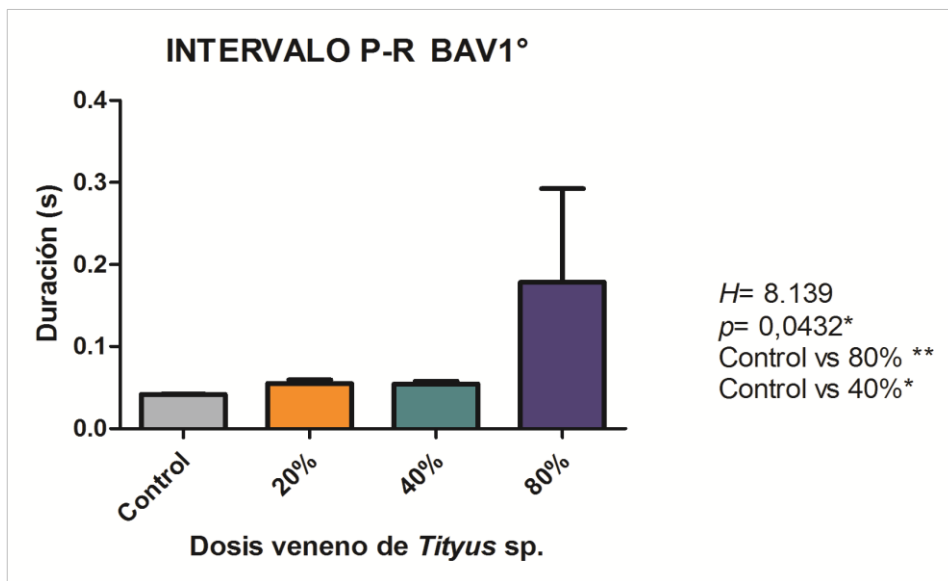


Figura 13. Análisis de Kruskal-Wallis de la duración del intervalo P-R en los bloqueos aurículo-ventriculares de primer grado, para el grupo control y las dosis aplicadas de veneno de *T. sp.*

El bloqueo aurículo-ventricular se ve representado en una demora o interrupción en el sistema eléctrico de conducción del corazón, con anomalías en la conducción del impulso eléctrico en el nodo aurículo-ventricular, el Haz de Hiss, o en sus ramificaciones (Oliva et al., 2012); éstas interrupciones en la conducción de los impulsos se pueden deber a que el veneno de escorpión, en su composición contiene péptidos de bajo peso molecular que actúan sobre los canales iónicos (Cheikh et al., 2006), pudiendo causar un posible bloqueo en la conducción de los impulsos generados en el corazón, de tal manera, que actúa activando sus marcapasos secundarios o generando el impulso en un marcapasos ectópico por lo cual el intervalo P-R se ve afectado prolongándose, esto muy probablemente

puede deberse a que mientras más rápido se despolarice el nodo AV, más dificultad tendrá de transmitir el impulso (Escobar, 2003).

Otra posible explicación de este tipo de arritmia, está asociada con los niveles del ion Magnesio (Mg^{+2}), el cual cumple un papel importante en varias funciones fisiológicas, activando la ATPasis y generando el transporte de los cationes como el Ca^{+2} y el K^{+1} . La deficiencia de Mg^{+2} (hipomagnesemia), puede contribuir a la formación de varias arritmias, generalmente ocurre concomitantemente con la hipokaliemia e hipocalcemia, siendo difícil la reposición adecuada de K^{+1} o Ca^{+2} sin reposición del magnesio, por el contrario el aumento en la producción del ion Mg^{+2} (hipermagnesemia), puede causar bradicardia, bloqueo atrio-ventricular de primer grado y aumento del intervalo QT (Lorentz and Brandão, 2011).

❖ Bloqueo Auriculo-Ventricular de segundo grado.

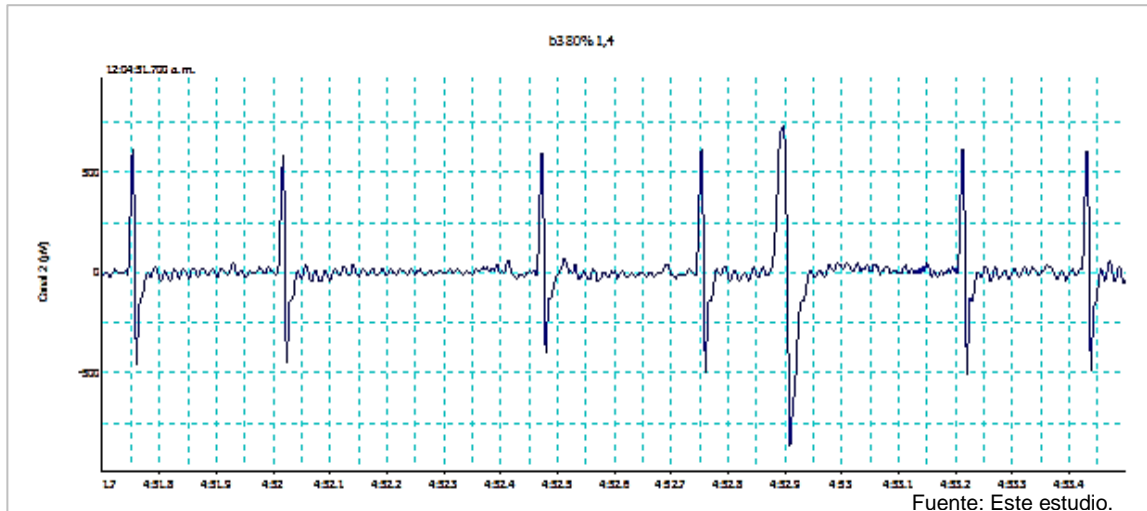


Figura 14. Registro electrocardiográfico de rata (*R. norvegicus*), en la derivación II, con bloqueo auriculo-ventricular de segundo grado.

La figura anterior, evidencia uno de los registros electrocardiográficos, que presentó bloqueos auriculo-ventriculares de segundo grado, con ritmo irregular,

complejo QRS normal, de difícil identificación de las ondas P y T y alargamiento de los intervalos PR y RR, algunos más prolongados en unos ciclos que en otros.

Analizando los valores del intervalo P-R, para los grupos control y tratamientos, no se encontró diferencia significativa (p -valor = 0,1649), es decir, estadísticamente no hay variedad entre los valores de la duración de P-R de las ratas del grupo control y los de las ratas que fueron tratadas con las dosis del veneno (Figura 15), sin embargo, en el registro de una de las ratas que le fue aplicado el 80% del veneno, se presentaron casos particulares de bloqueos de segundo grado, cuyo valor (dato distante mostrado en la figura 15 para la dosis del 80%), se incluyó en el análisis estadístico y posiblemente por ser el único y diferente no fue significativo, de igual manera en este estudio el dato fue tenido en cuenta debido a los reportes hechos por autores como (Pinto et al., 2010b; Pinto et al., 2010c; Teixeira Jr et al., 2001), sobre la aparición de bloqueos auriculo-ventriculares de segundo grado en los electrocardiogramas, atribuyéndolo a la acción del veneno.

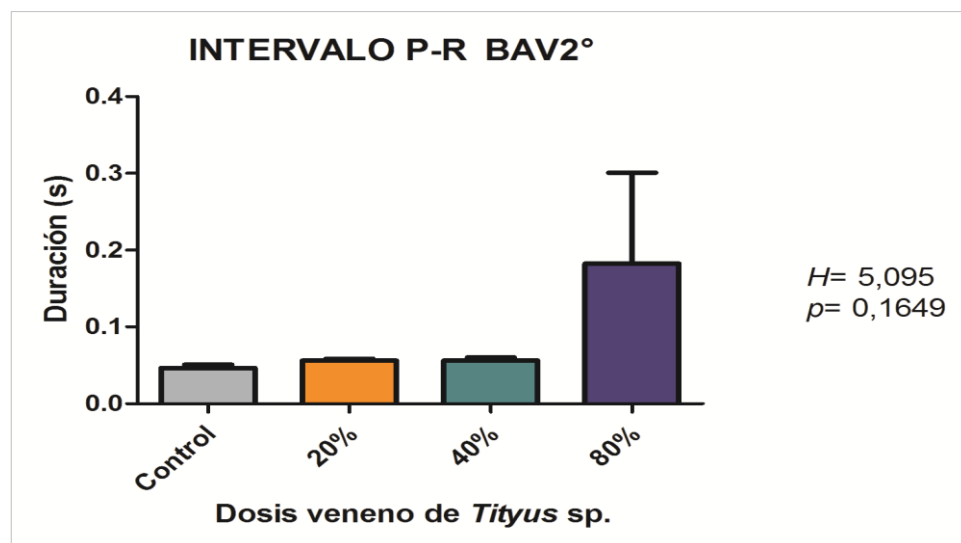


Figura 15. Análisis Kruskal- Wallis de la duración del intervalo P-R en los bloqueos auriculo-ventriculares de segundo grado, para el grupo control y las dosis aplicadas del veneno de *T. sp.*

Según lo reportado por Ferri en el 2006, dentro de las causas más frecuentes en la formación de los bloqueos de segundo grado, se encuentra la estimulación del tono vagal. En el 2006, Cheikh y colaboradores realizaron un estudio donde comprobaron que el veneno del escorpión *Buthus occitanus tunetanus* produce efectos inotrópicos y cronotrópicos negativos en el corazón aislado de rata y sugirieron que esos efectos podrían deberse al menos en parte, a una disminución de la corriente en los canales de calcio de tipo L, esta situación afectaría tanto al potencial de acción como a la actividad del calcio intracelular en la membrana, provocando un descenso de la actividad cardiaca, estimulando así la función de las fibras del nervio vago o parasimpático, quienes tienden a inhibir la función del corazón, disminuyendo la intensidad de contracción y la frecuencia de los impulsos. Al pasar los impulsos por el nódulo AV se producirá un retardo por ser esta una región que ofrece resistencia al paso del impulso cardiaco (Urroz, 1991). Además teniendo en cuenta los efectos bloqueadores que ofrecen las toxinas presentes en el veneno escorpiónico (Barona et al., 2006; Hanck and Sheets, 2007; Morales, 2013).

Las alteraciones degenerativas del sistema de conducción auriculo-ventricular, como isquemia de los nodos y la hipokaliemia (Escobar, 2003; Ferri, 2006), son otras de las posibles explicaciones en la formación de bloqueos de segundo grado.

La interferencia del veneno de escorpión sobre la regulación de la actividad eléctrica de corazón, causa desequilibrio iónico en los espacios intra y extracelulares. Los principales trastornos electrolíticos descritos en asociación con escorpionismo son hiperkaliemia e hipocalcemia (Matthew et al., 2006), estos efectos tóxicos de envenenamiento por escorpión en el corazón son resultado de mecanismos complejos, que conducen a alteraciones eléctricas, funcionales y estructurales (Abdoon and Fatani, 2009), dichas alteraciones pueden desencadenar otras disfunciones del sistema cardiorrespiratorio como la isquemia

de miocardio, que como mecanismo fisiopatológico es considerado un cuadro clínico del accidente escorpiónico severo. Este contexto ha llamado la atención de muchos investigadores, interesados en la presencia de alteraciones electrocardiográficas compatibles con isquemia, lesiones miocárdicas y la elevación de los niveles séricos de enzimas indicativas de lesión cardíaca, todas estas provocadas por la picadura de escorpión (Amaral et al., 1991; Cupo and Hering, 2002; Hering et al., 1992).

Estudios hechos por Cordeiro et al., 2006; Álvarez et al., 2010 y Pinto et al., 2010, coinciden en que entre las alteraciones electrocardiográficas más comunes generadas por el veneno de escorpión se encuentran: taquicardia sinusal con extrasístoles ventriculares, depresión del segmento ST, alteraciones observadas en la morfología del complejo QRS y la onda T, trastornos de la conducción auriculo-ventricular, bloqueos auriculo-ventriculares de primer y segundo grado, siendo que rara vez existe bloqueo completo.

❖ Bloqueo Auriculo-Ventricular de tercer grado.

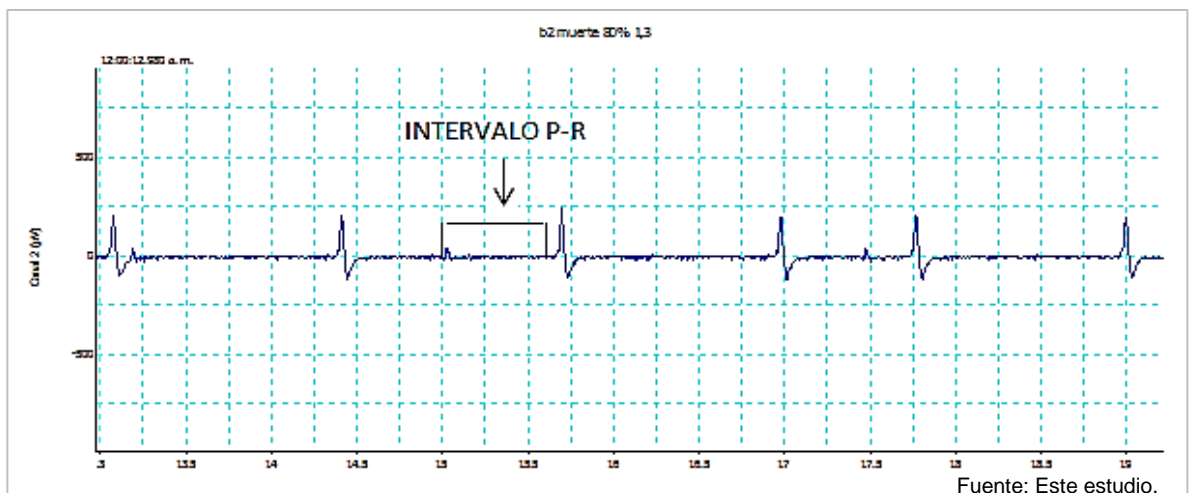


Figura 16. Registro electrocardiográfico de rata (*R. norvegicus*), en la derivación II, con bloqueo auriculo-ventricular de tercer grado.

El registro anterior presenta bloqueos auriculo-ventriculares de tercer grado, con ritmo irregular, complejo QRS ancho, ondas T y P desaparecidas en algunos ciclos e intervalos P-R alargados.

Para este tipo de bloqueo no hubo diferencia estadísticamente significativa (p -valor = 0,2872), en ninguna de las dosis aplicadas del veneno (Figura 17), Sin embargo se presentó el mismo caso del bloqueo de segundo grado, encontrándose casos de bloqueo de tercer grado en uno de los registros de rata tratada con la dosis del 80%, tal como se puede apreciar en la figura 16. Se decidió tenerlo en cuenta por ser un dato poco frecuente, encontrado en estudios relacionados con escorpionismo como lo menciona (Álvarez et al., 2010).

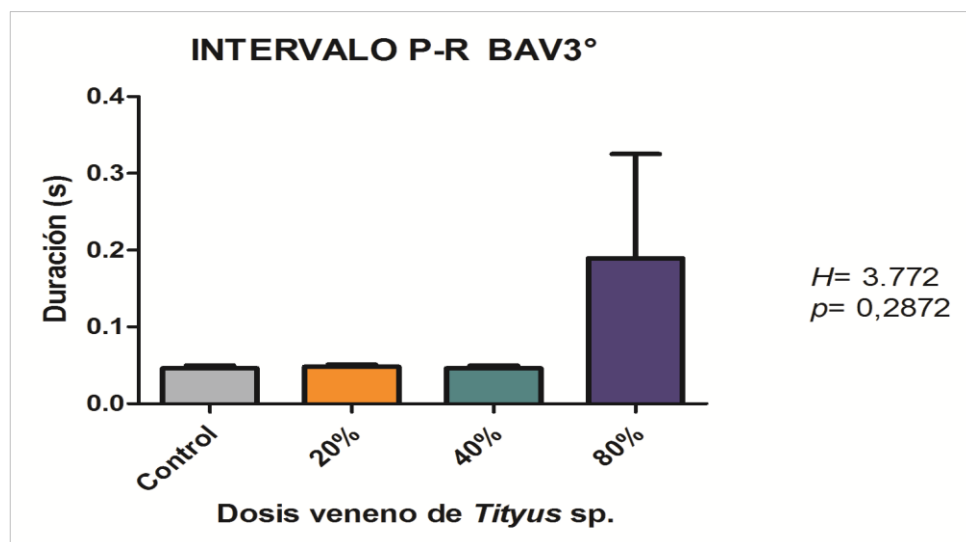


Figura 17. Análisis Kruskal- Wallis de la duración del intervalo P-R en los bloqueos auriculo-ventriculares de tercer grado, para el grupo control y las dosis aplicadas de veneno de *T. sp.*

El bloqueo auriculo-ventricular de tercer grado, se caracteriza por ser un bloqueo completo, es decir, los impulsos cardiacos no logran pasar de las aurículas hacia los ventrículos, estos trabajan con base a un ritmo ectópico localizado en cualquier parte del sistema His- Purkinje (Escobar, 2003), en esta ocasión el veneno pudo

haber actuado empleando un mecanismo de acción que bloquea o modula diferentes tipos de canales iónicos (Killinger *et al.*, 2005), generando un bloqueo al paso de los impulsos eléctricos, de esta manera el corazón se ve incapacitado para seguir con su funcionamiento normal, ocasionando que los ventrículos al no llegar el impulso no puedan cumplir su función de bombear sangre, generando la pérdida de suministro de oxígeno originando así la necrosis del tabique del haz de Hiss (Fuster *et al.*, 1997), y la aparición de bloqueos auriculo-ventriculares completos.

Lo anterior puede desencadenar la aparición de un infarto agudo de miocardio por la generación de la necrosis miocárdica que según Ferri (2006), ocurre por la formación de bloqueos auriculo-ventriculares completos. Algunas de las principales manifestaciones del IAM, son la aparición de fibrilaciones ventriculares y elevación de isoenzimas cardíacas CK y CK-MB (Fuster *et al.*, 1997), comparando esta sintomatología con nuestro estudio podemos afirmar que posiblemente hubo presencia de un infarto de miocardio en las ratas tratadas con la dosis del 80 % por la aparición de alteraciones de este tipo durante el proceso de envenenamiento.

Otra posible causa para la formación de bloqueos completos es la propuesta por (Killinger *et al.*, 2005), que en su estudio determinó la relación entre la conducción auriculo-ventricular y la frecuencia sinusal, mostró que el grado de bloqueo AV se incrementaba con la disminución de la frecuencia cardíaca, alteración que puede ser consecuencia de la estimulación parasimpática que ofrece el veneno de escorpión (Cheikh *et al.*, 2006; Pinto *et al.*, 2010b; Teixeira Jr *et al.*, 2001; Zayerzadeh *et al.*, 2010), este comportamiento puede interpretarse debido a un efecto predominante del tono vagal sobre el nodo AV, en presencia de un deterioro de la conducción en este nodo.

8.3 ANALISIS DE ENZIMAS CARDIACAS CK y CK-MB

8.3.1 Enzima CK

Analizando los resultados mostrados de la enzima CK, (Figura 18), se encontró que estadísticamente, existe diferencia significativa (p -valor=0.0466), entre los valores de CK del grupo control y los de las dosis de aplicadas de veneno., principalmente entre la dosis del 20% y la del 40% ($p < 0.05$), lo cual implica que el veneno logró elevar los niveles de CK, particularmente en la dosis del 40%. El aumento en los niveles de las demás dosis no fue estadísticamente significativo.

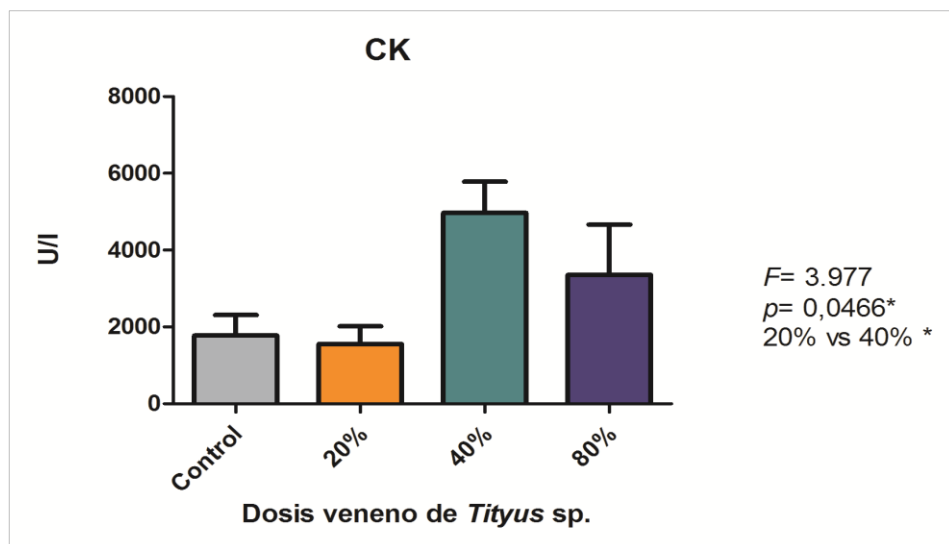


Figura 18. Análisis de Kruskal-Wallis de los valores de la enzima cardiaca CK, para el grupo control y las diferentes dosis aplicadas del veneno de *T. sp.*

Según lo reportado por Pinto et al., 2010, los valores normales de CK total encontrados en suero de ratas WISTAR son (1293 ± 390 U/l), comparando estos valores promedio con los resultados de los controles de este estudio, se nota un incremento que puede ser consecuencia de inyecciones intramusculares (aplicación del sedante), heridas y el decúbito prolongado que según (Cardinet III, 1997), pueden causar aumentos de la actividad de la CK. Los resultados

anteriores muestran que la dosis del 40% es la que causa mayor elevación de los niveles de CK, que pudo ser causada por posibles afectos adrenérgicos provocados por el veneno, es decir, hay un aumento en el consumo de oxígeno debido al efecto inotrópico positivo de catecolaminas liberadas por el veneno que podría llevar a una isquemia del miocardio, además de los efectos adrenérgicos importantes evocados por el veneno como reporta el estudio hecho por Teixeira et al., 2001, en el que menciona que una acción directa sobre las fibras cardíacas puede jugar un papel importante en el desarrollo de arritmias cardíacas y defectos de la contractilidad del corazón.

La CK total elevada es una característica de condiciones patológicas severas y es consecuencia de un constante daño tisular. Su elevación podría significar polimiositis, distrofia muscular, fallo renal e hipotiroidismo (Lloret et al., 1996). Cabe resaltar que ante un proceso de necrosis miocárdica, la creatincinasa, total se detecta por encima de su valor superior de referencia a partir de 4-6 horas del inicio de síntomas isquémicos. Lo anterior podría establecer un posible daño en las fibras miocárdicas, que se vería representado en la elevación de los niveles de esta enzima (Lloret et al., 1996).

La creatincinasa total no es cardioespecífica y sus intervalos de referencia normales varían con la edad, raza, masa muscular y sexo del individuo. Además puede elevarse por una gran variedad de condiciones patológicas, debido a esto posee la fracción MB, como unidad limitada para el diagnóstico de infarto agudo de miocardio (IAM) (Lloret et al., 1996).

8.3.2 Isoenzima CK-MB

Con respecto a la subunidad CK-MB, se encontró diferencia significativa (p -valor= 0.0489) entre los valores del grupo control y los obtenidos de las dosis aplicadas del veneno de *T. sp*, especialmente entre los del grupo control y los de la dosis del 40% ($p=0.0360$), y entre los de control y los de la dosis del 80% ($p=0.0119$). Para la dosis del 20% no se encontró significancia estadística (Figura 19). Analizando estos resultados se deduce que hubo un aumento en los niveles de CK-MB de las ratas tratadas con la dosis del 80%, seguido del incremento causado por la del 40%, es decir, que el veneno de este escorpión estimula la alteración en los niveles de esta isoenzima, dependiendo de la concentración del mismo.

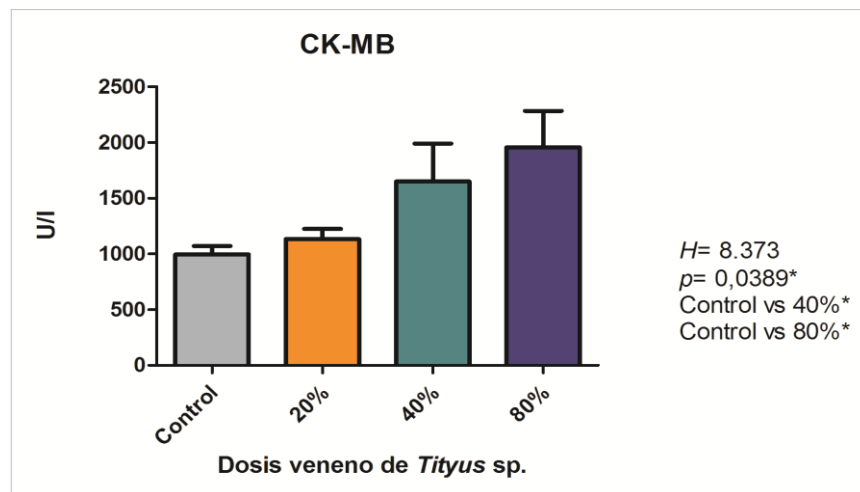


Figura 19. Análisis de Kruskal-Wallis de los valores de la isoenzima cardiaca CK-MB, para el grupo control y las diferentes dosis aplicadas del veneno de *T. sp*.

Pinto en el 2010, en su trabajo realizado con el veneno de *T. serrulatus* aplicado a ratas WISTAR, reportó los niveles normales de CK-MB (413 ± 176 U/I), comparando estos valores con los resultados obtenidos en este estudio, se aprecia un aumento en los niveles de esta isoenzima.

El aumento en los niveles de la CK-MB, se puede deber a un incremento de la concentración de enzimas intracelulares, esto puede suceder debido a la acción directa del veneno sobre el tejido muscular cardíaco y estriado. Sin embargo, también se ha sugerido que las alteraciones observadas en enzimas de pronóstico pueden deberse al estímulo de los mediadores químicos, que provocan su liberación (Heidarpour et al., 2012). Estudios anteriores como el de (Possani et al., 1999), han mostrado que las lesiones en el corazón son una consecuencia de sobrecarga de catecolaminas, la inhibición de canales iónicos causada por el veneno de escorpión provoca la liberación de éstas, conduciendo al consumo aumentado de oxígeno por los miocitos, hipoxia de miocardio y la degeneración del tejido.

De Figueiredo et al., 2010, planteó un posible mecanismo que contribuiría a la explicación de las alteraciones cardíacas producidas por el escorpionismo, la isquemia miocárdica la cual está relacionada electrocardiográficamente con supra e infra desnivelaciones del segmento ST y zonas eléctricamente inactivas; muchas veces asociadas a la elevación de los niveles de las enzimas cardíacas. La isquemia miocárdica en el envenenamiento por escorpión puede ser una resultante de la hiperestimulación de receptores alfa-adrenérgicos, que provocaría una constricción microvascular en la circulación coronaria, además por el aumento del consumo de O₂, del músculo cardíaco, debido al metabolismo y la perfusión, alteraciones que se producen por la picadura de escorpión (Cordeiro et al., 2006).

Los valores de CK-MB masa en humanos empiezan a detectarse en suero a partir de las 3 a 6 horas de inicio de los síntomas isquémicos y de infarto, permaneciendo elevados entre las 36 a 72 horas (Vasudevan and Sreekumari, 2012). Según el estudio realizado por Pinto y colaboradores en el 2010, los niveles de CK-MB se incrementan durante la primera hora post-envenenamiento. En nuestro estudio, se presenta un aumento después de las 3 horas de la aplicación del veneno, cabe aclarar que en este estudio los niveles para las enzimas solo se

midieron pasado este tiempo, debido que de acuerdo con la revisión bibliográfica como se mencionó anteriormente, la CK-MB se elevaba a partir de las 3 o 6 horas luego que se presentara alguna alteración en el corazón. No se hizo ningún seguimiento durante la exposición al veneno, pues lo que se pretendía era conocer que efecto producía el veneno sobre dichas enzimas.

Otros estudios realizados con diferentes venenos de escorpión han evaluado los efectos de estos en los niveles de la CK-MB, por ejemplo: Cordeiro y colaboradores en el 2006, con el veneno de *T.serrulatus* en perros encontró que este veneno efectivamente incrementaba los niveles de CK-MB, años más tarde Pinto y colaboradores en el 2010, aplicando el veneno de *T.serrulatus* y *T. fasciolatus* en ratas WISTAR, reportaron el aumento significativo en los niveles de esta isoenzima, los anteriores autores coinciden en que estas elevaciones se deben a la liberación de neurotransmisores y daño directo sobre los miocitos. Zayerzadeh en el 2010, no encontró elevación significativa en los niveles de CK-MB en conejos tratados con el veneno de *Mesobhutus eupeus*, lo que atribuyó a que este veneno produjo alteraciones mayores en pulmón y los efectos cardiacos fueron insignificantes, es decir, que la actividad cardiaca con el veneno de este escorpión no es grave, en comparación con los que pueden producir los venenos de los escorpiones del género *Tityus*, otra explicación sería el animal experimental utilizado en este estudio (conejo), que puede haber reaccionado diferente a las ratas o simplemente el veneno de este género tiene afinidad hacia otros órganos.

8.4 HISTOLOGÍA CARDIACA.

8.4.1 Infiltrado inflamatorio.

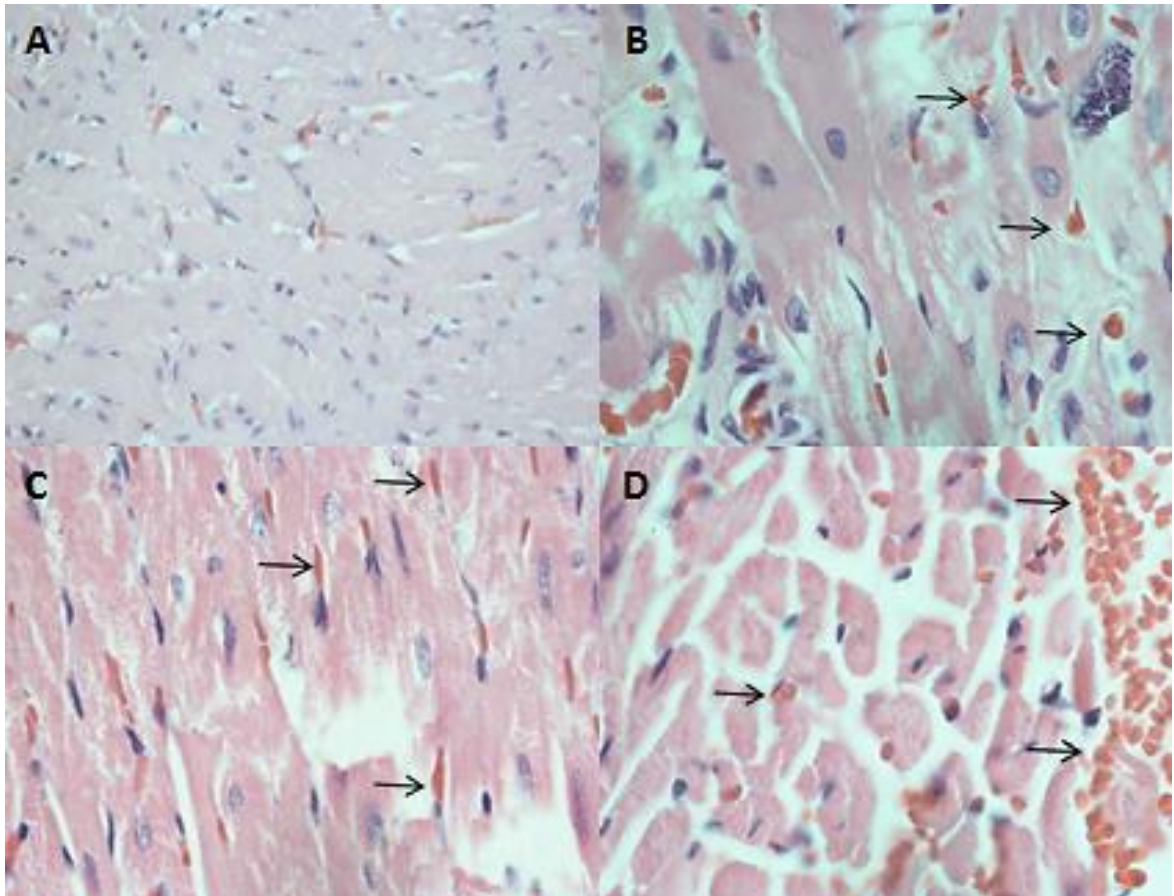


Figura 20. **Infiltrado inflamatorio del tejido cardiaco de las ratas inoculadas con el veneno de *T. sp***, (A) Tejido cardiaco grupo control, (B) Infiltrado inflamatorios del tejido de ratas inoculadas con el 20% DL₅₀, (C) Infiltrado inflamatorios del tejido de ratas inoculadas con el 40% DL₅₀, (D) Infiltrado inflamatorios del tejido de ratas inoculadas con el 80% DL₅₀. H-E. 100X.

El tejido cardiaco de las ratas control, mostró fibras musculares cardiacas paralelas organizadas, con estriaciones y núcleos normales. Los de las ratas

tratadas con el veneno de *T.sp*, presentaron fibras cardiacas desorganizadas, rotas con ausencia de núcleo y células sanguíneas (infiltrado inflamatorio), esparcidas en el tejido, en mayor cantidad en el tejido de las ratas inoculadas con el 80% del veneno, seguido del 40% y pocos infiltrados para la dosis del 20% (Figura 20).

La prueba estadística para el infiltrado inflamatorio, presentó diferencia estadísticamente significativa (p -valor = 0,0084), lo que indica que la aparición de infiltrado inflamatorio en el tejido cardiaco es dependiente de la dosis de veneno aplicada. En las 3 dosis se presentaron infiltrados leves en tejido cardiaco, la dosis del 20% sólo 2 individuos, en las del 40% y 80% en todos los individuos de cada dosis (Figura 21). La aparición de estos infiltrados en el tejido cardiaco de las ratas coincide con la presencia de necrosis, debido a que el tejido cardiaco antes de padecerla pasa primero por un proceso de inflamación (Kumar et al., 2008).

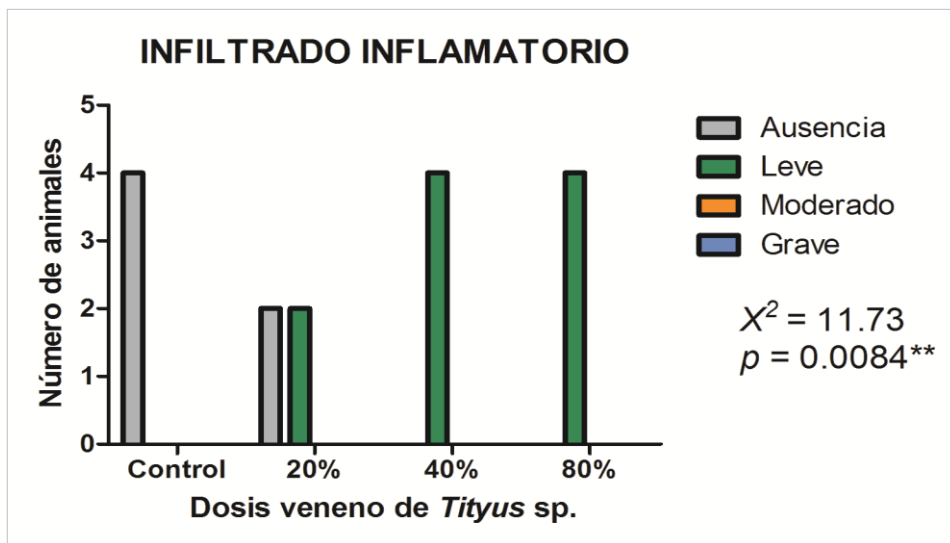


Figura 21. Análisis de Chi- Cuadrado para el número de animales que presentaron infiltrados inflamatorios en el tejido cardiaco, por dosis de veneno aplicado.

Kumar en el 2008, propuso un mecanismo que puede explicar la presencia de los infiltrados inflamatorios en el tejido cardiaco, dicho mecanismo tiene que ver con

fagocitos y otras células del huésped que reaccionan a la presencia de una sustancia extraña o anormal (el veneno), liberando varias moléculas de proteínas y lípidos que funcionan como mediadores químicos de la inflamación (p.ej. citocinas, histamina). El envenenamiento escorpiónico es un proceso no infeccioso que induce la liberación masiva de citoquinas proinflamatorias, las cuales pueden producir una respuesta inflamatoria generalizada. Las citoquinas son mediadores pleiotrópicos capaces de estimular múltiples efectos biológicos. También se producen mediadores a partir de las proteínas plasmáticas que reaccionan con los microbios o con los tejidos lesionados, algunos de estos actúan sobre los pequeños vasos sanguíneos de la vecindad y promueven la salida de plasma y el reclutamiento de leucocitos circulantes en el sitio en donde se localiza el elemento causal. En el foco lesivo los leucocitos reclutados son activados por el agente lesivo y por mediadores producidos localmente, intentando eliminar el objeto extraño, por fagocitosis y deshacerse de los tejidos necróticos. El tejido cardiaco pudo haber presentado una inflamación aguda como reacción rápida al efecto del veneno, liberando así leucocitos y proteínas plasmáticas en el lugar afectado.

Las reacciones inflamatorias agudas pueden ser desencadenadas por varios estímulos: Infecciones, traumatismos, cuerpos extraños y necrosis tisular (de cualquier causa), incluida la isquemia (como en el infarto de miocardio) y la lesión física y química (Kumar et al., 2008). Lo anterior explica por qué se presentaron mayores áreas con infiltrados en los tejidos de las ratas tratadas con las dosis del 80% y del 40%, con respecto a la dosis del 20%, ya que la necrosis en los tejidos de éstas dosis estaba en estados más avanzados que en la de menor porcentaje.

Otra de las posibles causas de la presencia de estos infiltrados podría ser la miocarditis, que representa inflamación del miocardio a causa de una lesión. Sin embargo, es importante resaltar que la sola inflamación no es diagnóstica de miocarditis; por ejemplo, también pueden aparecer infiltrados inflamatorios como

respuesta secundaria al daño por isquemia (efecto del veneno) (Kumar et al., 2008).

8.4.2 Edema.

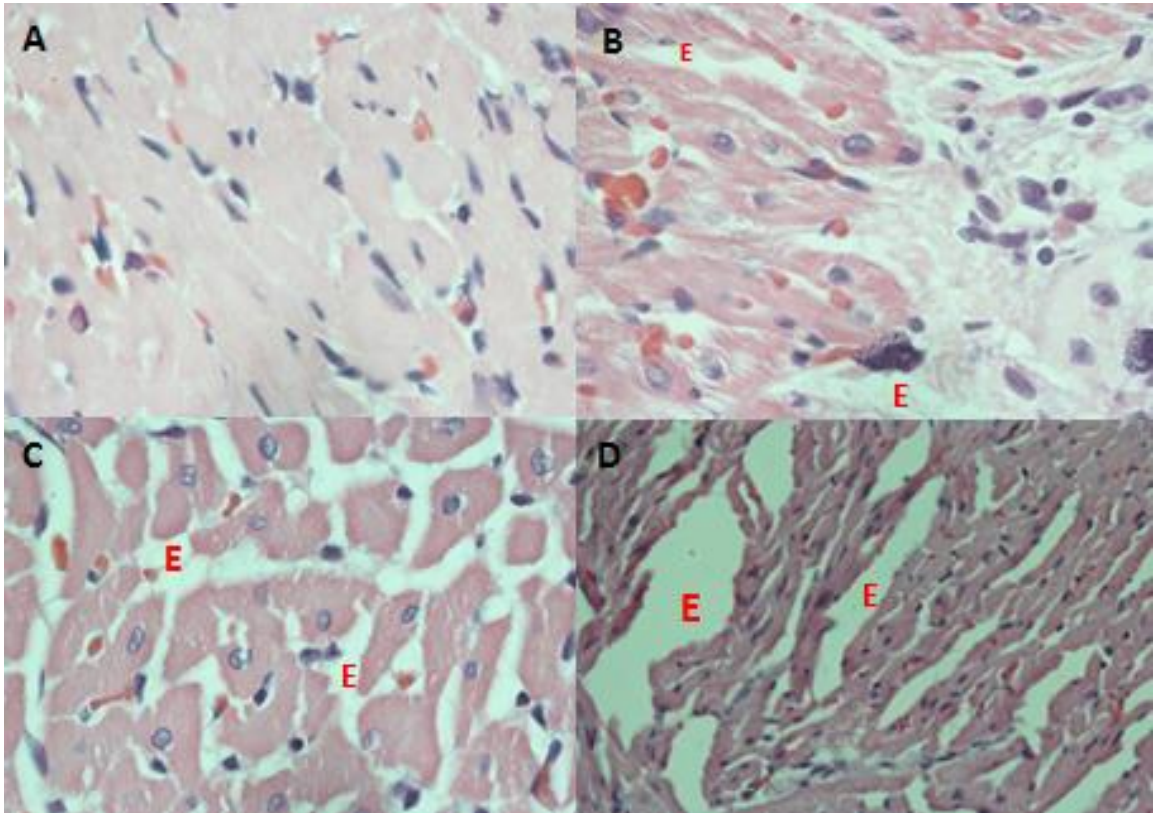


Figura 22. **Edema (E), del tejido cardiaco de las ratas inoculadas con el veneno de *T. sp*, (A) Tejido cardiaco grupo control, (B) Edema del tejido de ratas inoculadas con el 20% DL₅₀, (C) Edema del tejido de ratas inoculadas con el 40% DL₅₀, (D) Edema del tejido de ratas inoculadas con el 80% DL₅₀. H-E. 100X.**

El edema se presentó en todos los tejidos de las ratas a las que se les administraron las diferentes dosis del veneno de *T.sp*. en la dosis del 80% los edemas se encontraron en mayor cantidad y diámetro, en comparación con los del tejido de las ratas inoculadas con el 40% del veneno, en los que el edema

apareció en mayor proporción en algunas regiones de tejido más que en otras especialmente en los lugares necróticos. En la dosis del 20% fueron pocos los edemas encontrados. El tejido de las ratas control presentó fibras cardiacas con estriaciones, núcleo normal y ausencia de zonas edematosas (Figura 22).

Analizando la presencia del edema en el tejido cardiaco de las ratas inoculadas con el veneno de *T. sp*, en la dosis del 20%, 3 individuos presentan edema leve y 1 moderado, en la dosis del 40%, los 4 individuos moderado y en la del 80%, 1 moderado y 3 grave (Figura 23), indicando que a medida que la dosis aumenta la severidad del edema es mayor. Estadísticamente se encontró que existe diferencia significativa (p-valor = 0,0011), deduciendo que el tipo edema producido por el veneno es dependiente de la dosis inoculada.

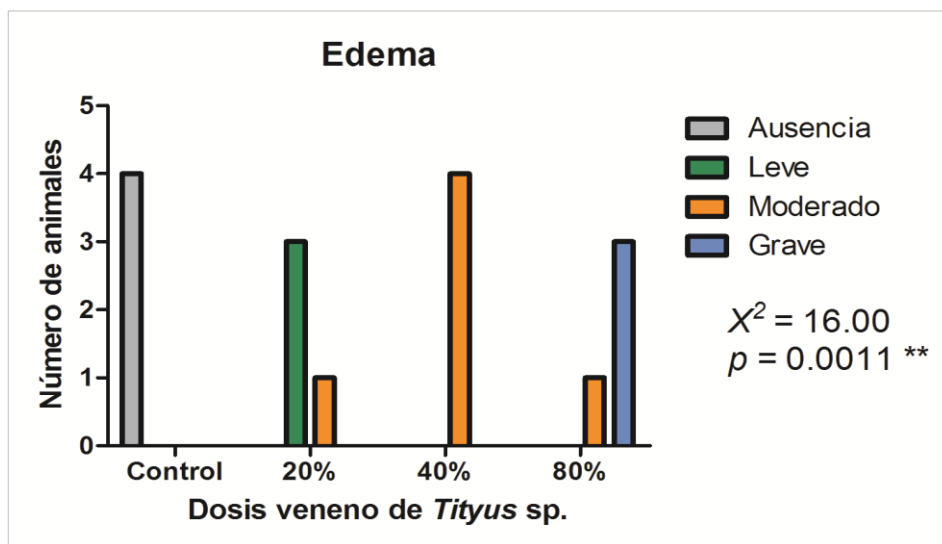


Figura 23. Análisis de Chi- Cuadrado para el número de animales que presentaron edema en el tejido cardiaco, por dosis de veneno aplicado.

El edema se refiere a la presencia de un exceso de líquido en los tejidos corporales en este caso del tejido cardiaco. En la mayoría de los casos aparece

sobre todo en el compartimiento del líquido extracelular, pero puede afectar también al líquido intracelular (Hall, 2011).

Una de las posibles causas de la formación del edema en el tejido cardiaco es la reducción del flujo sanguíneo, ocasionado por el veneno, que al obstruir o bloquear los canales iónicos de las células marcapaso del corazón (Gazarian et al., 2005), impide el paso de los impulsos eléctricos de las aurículas a los ventrículos, provocando que estos no puedan realizar completamente la función del llenado de sangre causando una disminución en el flujo de sangre, cuando esto sucede, el reparto de oxígeno y nutrientes se escasea de igual manera y el metabolismo normal tisular no se logra mantener en su normalidad, generando una depresión en las bombas iónicas de la membrana celular. En consecuencia, los iones de Na^{+1} , que normalmente se filtran hacia el interior de la célula ya no pueden ser bombeados a las células, y el exceso Na^{+1} extracelular permite el paso del agua al interior de las células por osmosis. A veces esto puede incrementar el volumen intracelular de una zona de tejido, de 2 a 3 veces el volumen normal. Esta situación, suele ser el preludio de la muerte del tejido (Hall, 2011). Lo anterior podría explicar la relación que tendría la formación del edema con la necrosis del tejido cardiaco también causado por el veneno de *T.sp.*

El mecanismo que podría explicar la formación del edema en el tejido cardiaco está relacionado con el proceso inicial de la inflamación, la vasodilatación arteriolar y el aumento del flujo sanguíneo, que aumentan la presión hidrostática intravascular, dando lugar al paso de líquido de los capilares a los tejidos. Este líquido denominado trasudado, es esencialmente un ultrafiltrado de plasma sanguíneo y contiene pocas proteínas. Sin embargo, la trasudación se ve pronto eclipsada por un aumento de la permeabilidad vascular que permite el paso de líquido rico en proteínas e incluso en células (denominado exudado) al intersticio, reduciendo la presión osmótica intravascular y aumentando la presión osmótica del líquido intersticial. El resultado neto es una salida de agua e iones a los tejidos

extravasculares, la acumulación de líquido en estos espacios recibe el nombre de edema (Kumar et al., 2008).

La insuficiencia cardíaca según Kumar (2008), es una de las causas que contribuyen a la formación del edema. La elevación generalizada de la presión venosa y la formación de edema, se presentan con más frecuencia en la insuficiencia cardíaca congestiva afectando la función ventricular derecha. Aunque el incremento de la presión hidrostática venosa es importante, la patología del edema cardíaco es compleja. Esta insuficiencia se asocia a una disminución del gasto cardíaco y por consiguiente, se reduce la perfusión renal. Esta hipoperfusión estimula a su vez al eje renina-angiotensina aldosterona, lo que da lugar a una retención de agua y Na^+ en los riñones, que pretende elevar el volumen intravascular, para mejorar el gasto cardíaco y restablecer la perfusión renal normal. Sin embargo, si el corazón es insuficiente y no puede incrementar el gasto cardíaco, el exceso de líquido producirá un aumento de la presión venosa y, posteriormente un edema.

Varios autores han planteado posibles causas a cerca de la aparición del edema a partir de la picadura de escorpión. Según el estudio realizado por Amaral y colaboradores (1991), con el veneno de *T. serrulatus*, sugirieron que el edema pudo haberse producido por la acción de las toxinas de escorpión, que provocarían la aparición de insuficiencia ventricular izquierda aguda debido a la liberación masiva de catecolaminas o daño del miocardio inducido por el veneno. Se ha propuesto también que el edema podría derivarse del aumento de la permeabilidad vascular producida por sustancias vasoactivas que pueden ser liberadas por el veneno. Cordeiro y colaboradores en el 2006, estudiaron el veneno de *T. serrulatus* y proponen que la insuficiencia cardíaca es uno de los factores que puede influir en la formación de los edemas por la acumulación de líquido, que genera daño en los ventrículos y posteriormente una congestión pulmonar.

8.4.3 Necrosis

El tejido cardíaco de las ratas control, presentó fibras organizadas con estriaciones normales y núcleos centrales sin anomalía alguna. Por el contrario el tejido de las ratas tratadas con el veneno de *T.sp.* en especial con la dosis del 80%, mostraron fibras con degeneración total, palidez, pérdida de estriaciones, ausencia de núcleos y grandes zonas edematosas, en la dosis del 40% las fibras se encuentran parcialmente degeneradas, con núcleos deformes y edemas alrededor, la dosis del 20% se observan pocas fibras necróticas con estriaciones regulares, y ausencia de núcleo en algunas de ellas (Figura 24).

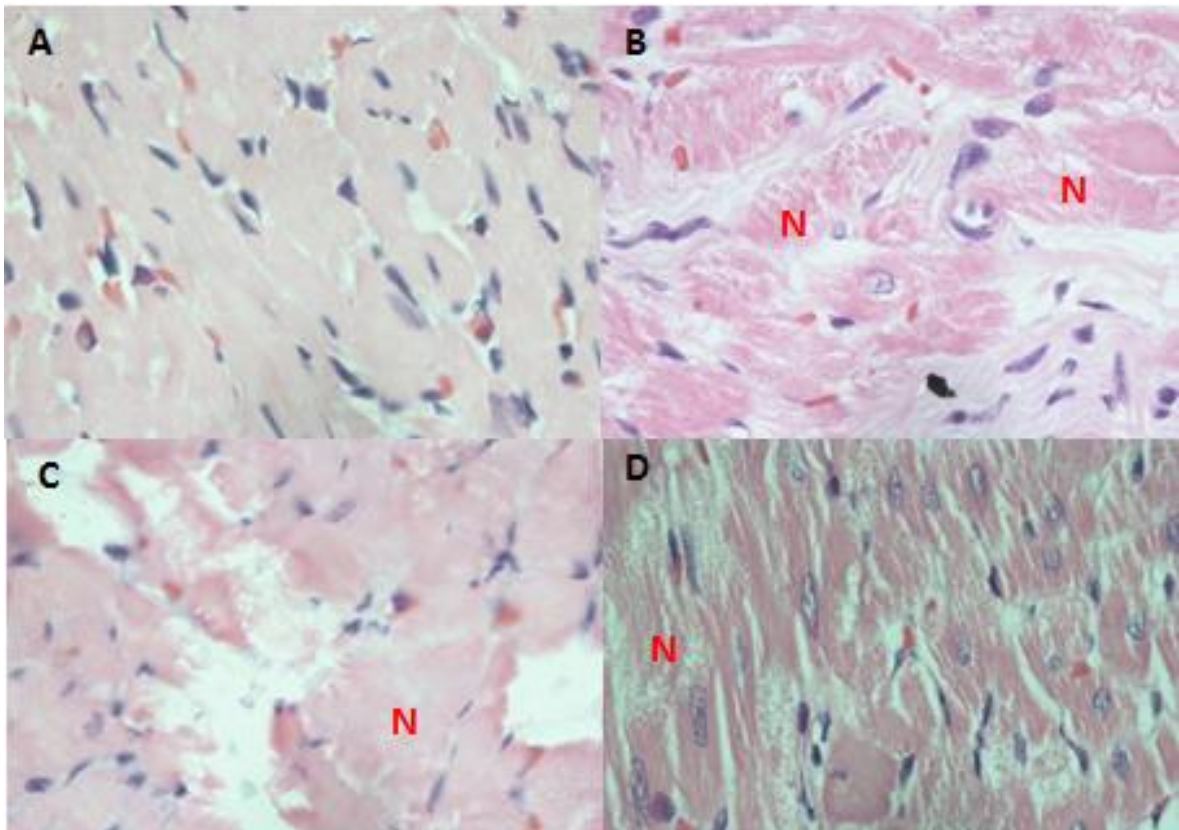


Figura 24. **Necrosis (N) del Tejido cardíaco de las ratas inoculadas con el veneno de *T. sp.***, (A) Tejido cardíaco grupo control, (B) Necrosis del tejido de ratas inoculadas con el 20% DL₅₀, (C) Necrosis del tejido de ratas inoculadas con

el 40% DL₅₀, **(D)** Necrosis del tejido de ratas inoculadas con el 80% DL₅₀. H-E. 100X.

La necrosis del tejido cardiaco se encontró, en la dosis del 20% solamente en 1 individuo de manera moderada, para la del 40% en 3 individuos levemente y en la del 80% 2 individuos la presentaron moderada y 2 grave. La prueba estadística, reveló que existe diferencia estadísticamente significativa (p-valor = 0,0186), es decir, que la necrosis es dependiente de la dosis de veneno aplicada, por lo tanto a mayor dosis, esta tiende a ser más aguda (Figura 25).

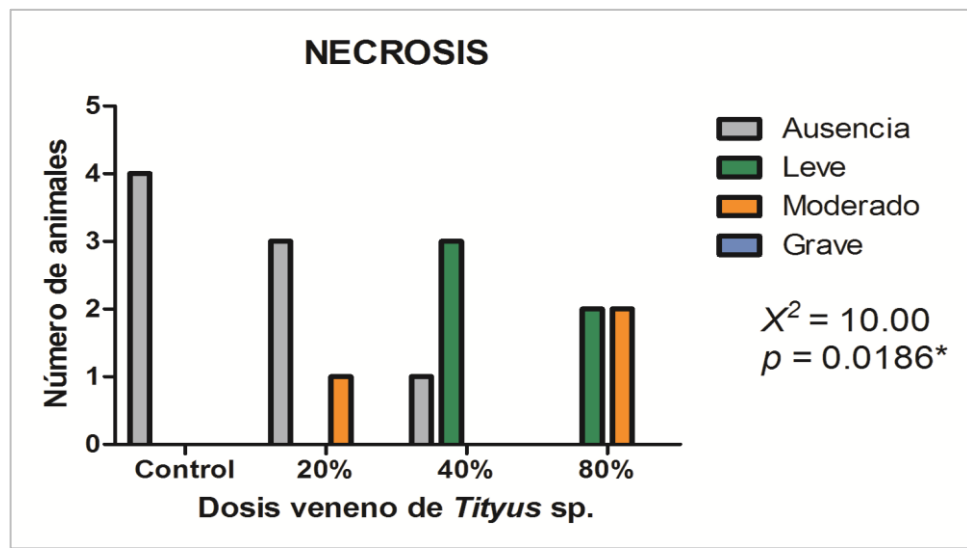


Figura 25. Análisis de Chi- Cuadrado para número de animales que presentaron necrosis del tejido cardiaco, por dosis de veneno aplicado.

Cuando se habla de necrosis miocárdica, se refiere a la muerte de las células del tejido cardiaco, lo que puede ser causado por diferentes lesiones.

Según Kumar en el 2008, la muerte celular o necrosis, se produce como consecuencia de diversas causas tales como: infecciones, toxinas, reacciones inmunitarias e isquemia de miocardio. En la revisión hecha por Teixeira y

colaboradores en el 2003, sobre los mecanismos de la necrosis miocárdica inducida por el veneno de *T. serrulatus*, se sugirió que la sola tormenta simpática no causaba todas las manifestaciones clínicas y hemodinámicas provocadas por el veneno, entre estas la necrosis. Además existen otros factores que también influyen como la cascada inflamatoria, los mediadores inflamatorios y los neuropeptidos, que poseen un papel importante en el desarrollo de lesiones y letalidad por el envenenamiento (Kumar et al., 2008).

Otra posible explicación del origen de la necrosis, tiene que ver con la capacidad ya mencionada que tiene el veneno de alterar la actividad de los canales iónicos de las células del corazón (Gazarian et al., 2005), de esta manera se podría formar un bloqueo en el momento del paso de los impulsos eléctricos de las aurículas hacia los ventrículos, los cuales están encargados de cumplir la función de llenado de sangre en el corazón, si el veneno altera estos canales el impulso no podrá llegar a los ventrículos y estos se verán obligados a contraerse de manera irregular, ocasionando que haya poco flujo de sangre en el corazón y por consiguiente de oxígeno, la insuficiencia de este desencadenaría la isquemia de miocardio, que es otra de las posibles causas de la necrosis, debido a que la falta de irrigación de oxígeno hacia las células miocárdicas provocaría la pérdida de su funcionalidad y posterior muerte.

La isquemia de miocardio también está relacionada con el aumento de la concentración de calcio citosólico, inicialmente por liberación de Ca^{+2} de los depósitos intracelulares, y posteriormente como consecuencia de un aumento de la entrada a través de la membrana plasmática. El aumento del Ca^{+2} activa numerosas enzimas, con efectos celulares potencialmente perjudiciales, dentro de las que están incluidas las fosfolipasas (que causan daño en las membranas) y proteasas (que rompen proteínas de las membranas citoesqueleticas). Los daños producidos por las enzimas al interior de la célula podrán ser otra explicación de la génesis de la necrosis de los miocitos cardiacos (Kumar et al., 2008).

Benvenuti y colaboradores en el 2002, en su estudio con el veneno de *T.serrulatus*, sugirieron que la necrosis miocárdica, podría deberse a un caso de isquemia, inducido por el aumento en la demanda del oxígeno causado por estímulo inotrópico del corazón, sin un incremento equivalente del flujo de sangre coronario debido a una obstrucción que bloquea la irrigación del miocardio, produciendo consecuencias funcionales, bioquímicas y morfológicas profundas. A los pocos segundos de la obstrucción vascular se interrumpe la glucólisis aerobia de los miocitos cardiacos, dando lugar a una producción inadecuada de ATP y a la acumulación de productos catabólicos potencialmente perjudiciales (p.ej., ácido láctico), trayendo como consecuencia la pérdida de contractilidad, que aparece después de un minuto de isquemia.

Para el diagnóstico de la necrosis miocárdica, la sintomatología clínica y los hallazgos electrocardiográficos son importantes, pero en numerosas ocasiones el diagnóstico de certeza se basa en resultados y análisis de los marcadores biológicos de la misma (Santaló Bel et al., 2003). Las enzimas cardiacas son la pauta de referencia diagnóstica de necrosis miocárdica, la elevación de la enzima CK y de su fracción CK-MB, en especial de la última es signo de presencia de necrosis, por ser cardiospecífica, ha sido utilizada hasta el momento para éste diagnóstico. En nuestro estudio la CK-MB, presentó elevación de sus niveles en el suero de las ratas tratadas con el veneno, especialmente en las dosis del 40% (en menor proporción) y del 80% (mayor proporción), lo que confirmaría la aparición de necrosis en los tejidos de los individuos a los que se les administraron estas dosis.

9. CONCLUSIONES

El veneno total del escorpión *Tityus sp*, causó las siguientes manifestaciones cardiotòxicas:

- ❖ Generó una sintomatología clínica leve moderada y grave, dependiendo de la dosis de veneno aplicada, producida probablemente por la estimulación colinérgica provocada por el veneno, concordando con la reportada por otros autores.
- ❖ Produjo un efecto cronotrópico negativo sobre el corazón de las ratas tratadas es especial con las dosis mayores (40% y 80%), que contribuyó a una disminución en la frecuencia cardiaca, ocasionada posiblemente por la estimulación del sistema nervioso parasimpático.
- ❖ Causó elevación en los niveles de la enzima CK y de su fracción CK-MB, por posible daño de los miocitos cardiacos y la necrosis del tejido cardiaco.
- ❖ Generó alteraciones electrocardiográficas, por posible bloqueo en los canales iónicos, aparición de focos ectópicos, o daño en el sistema de conducción eléctrica del corazón, concordantes con las ya reportadas por otros autores que han realizado estudios con el veneno de los escorpiones del genero *Tityus*.
- ❖ Causó daño en el tejido cardiaco ocasionando la presencia de necrosis de sus células, inflamación del tejido cardiaco y la edematización del mismo.
- ❖ A mayor dosis de veneno se presentaron mayores efectos y alteraciones en el tejido cardiaco.

- ❖ Este estudio se convierte en un punto de partida para la realización de nuevas investigaciones sobre esta y otras especies venenosas endémicas del Departamento del Cauca, con el fin de conocer el potencial biotecnológico, farmacológico y toxicológico que tienen y de esa forma contribuir a la prevención y manejo de los accidentes escorpiónicos.

10.RECOMENDACIONES

- Realizar estudios de los niveles en sangre de los iones K^{+1} , Na^{+1} , Ca^{+1} para conocer como el veneno afecta sus concentraciones, debido a las alteraciones que causa en los canales de los mismos.
- Tener en cuenta, los niveles de troponina I, Mioglobina y las subformas de la isoenzima CK-MB, para la realización de próximos estudios cardiotóxicos, ya que son importantes marcadores de daño cardiaco y servirían para confirmar la presencia de infarto y necrosis miocárdica.
- Investigar los posibles efectos producidos por el veneno de esta especie en los diferentes órganos del cuerpo.
- Purificar del veneno total de *T.sp*, las moléculas causantes de daño cardiaco y estudiar su efecto en los canales iónicos de membrana de las células cardiacas.
- Este estudio podría ser complementado con métodos alternativos como la ecocardiografía que permite analizar los daños en el corazón desde otro ángulo, contribuyendo a un mayor conocimiento de las patologías cardiacas.

11. BIBLIOGRAFÍA

ABDOON, N.A., AND FATANI, A.J. (2009). Correlation between blood pressure, cytokines and nitric oxide in conscious rabbits injected with *Leiurus quinquestriatus* scorpion venom. *Toxicon* 54, 471-480.

ALBORNOZ, B., CEDEÑO, P., AND PEREIRA, R. (2008). Cambios histopatológicos agudos causados por el veneno de *Tityus nororientalis* (scorpiones, buthidae) en miocardio de ratones NMRI, BALBc Y C57BL/6.

ÁLVAREZ PARMA, J., AND PALLADINO, C.M. (2010). Envenenamiento por escorpión en la Argentina. *Archivos argentinos de pediatría* 108, 161-167.

AMARAL, C.F.S., LOPES, J., MAGALHÃES, R.A., AND DE REZENDE, N.A. (1991). Electrocardiographic, enzymatic and echocardiographic evidence of myocardial damage after *Tityus serrulatus* scorpion poisoning. *The American journal of cardiology* 67, 655-657.

ARENAS, C., ALVES, E., CARDOSO, D., CRUZ, J., BLOCH, J., FERRONI, E. (2013). Identification and characterization of new sodium channel modulators from the venom of the Colombian scorpion *Tityus* sp. (Universidade de Brasília, Brasília-DF-Brazil.).

ARENAS, C., BELTRAN, J., AND GUERRERO-VARGAS, J.A. (2010). Determinación de las alteraciones electrocardiográficas causadas por el veneno del escorpión *Centruroides margaritatus*, en ratas *Rattus norvegicus* cepa WISTAR. Trabajo de grado (Biólogo). Universidad del Cauca. Facultad de Ciencias Naturales, Exactas y de la Educación. Programa Biología.

BARONA, J., BATISTA, C.V., ZAMUDIO, F.Z., GOMEZ-LAGUNAS, F., WANKE, E., OTERO, R., AND POSSANI, L.D. (2006). Proteomic analysis of the venom and characterization of toxins specific for Na and K channels from the Colombian scorpion *Tityus pachyurus* *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Proteins and Proteomics* 1764, 76-84.

BARONA, J., OTERO, R., & NÚÑEZ, V. (2004). Aspectos toxicológicos e inmunoquímicos del veneno del escorpión *Tityus pachyurus* Pocock de Colombia: capacidad neutralizante de antivenenos producidos en Latinoamérica. *Biomédica*, 24(1), 42-49.

BECERRIL, B., CORONA, M., GARCÍA, C., BOLÍVAR, F., AND POSSANI, L.D. (1995). Cloning of genes encoding scorpion toxins: an interpretative review. *Toxin Reviews* 14, 339-357.

- BECERRIL, B., MARANGONI, S., AND POSSANI, L.D. (1997). Toxins and genes isolated from scorpions of the genus *Tityus*. *Toxicon* 35, 821-835.
- BELERENIAN, G.C., MUCHA, C.J., CAMACHO, A.A., AND MANUBENS GRAU, J. (2001). Afecciones cardiovasculares en pequeños animales (Ed. Inter-Médica).
- BENVENUTI, L.A., DOUETTS, K.V., AND CARDOSO, J.L.C. (2002). Myocardial necrosis after envenomation by the scorpion *Tityus serrulatus*. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 96, 275-276.
- BERMÚDEZ ARIAS, F. (2005). La recuperación del miocardio hibernado mejora el pronóstico de la cardiopatía isquémica metabólica. *Gaceta Médica de Caracas* 113, 19-41.
- BERTAZZI, D.T., ISABEL DE ASSIS-PANDOCHI, A., ELISA CALEIRO SEIXAS AZZOLINI, A., TALHAFFERRO, V.L., LAZZARINI, M., AND ARANTES, E.C. (2003). Effect of *Tityus serrulatus* scorpion venom and its major toxin, TsTX-I, on the complement system in vivo. *Toxicon* 41, 501-508.
- BOTERO-TRUJILLO, R. (2009). Two new species of *Ananteris* (Scorpiones, Buthidae) from El Tuparro Natural National Park, eastern Colombia. *Comptes Rendus Biologies* 332, 83-94.
- BOTERO-TRUJILLO, R., AND NORIEGA, J.A. (2008). First record of the scorpion genus *Microtityus* from Colombia, with the description of a new species (Scorpiones, Buthidae). *Journal of Arachnology* 36, 259-266.
- BROWNELL, P., AND POLIS, G.A. (2001). *Scorpion biology and research* (Oxford University Press New York).
- BRUSCA, R., AND BRUSCA, G. (2005). *Invertebrados segunda edición*.
- CARDINET III, G.H. (1997). Skeletal muscle function. *Clinical biochemistry of domestic animals* 5, 407-440.
- CORDEIRO, F., SAKATE, M., FERNANDES, V., AND CUYUMJIAN, P. (2006). Clinical and cardiovascular alterations produced by scorpion envenomation in dogs. *Journal of venomous animals and toxins including tropical diseases* 12, 19-43.
- CUNNINGHAM, J.G., AND HERNÁNDEZ, V.O.F. (1999). *Fisiología veterinaria* (McGraw-Hill Interamericana México).

CUPO, P., AND HERING, S.E. (2002). Cardiac troponin I release after severe scorpion envenoming by *Tityus serrulatus*. *Toxicon* 40, 823-830.

CUPO, P., JURCA, M., AZEVEDO-MARQUES, M.M., OLIVEIRA, J.S.M., AND HERING, S.E. (1994). Severe scorpion envenomation in Brazil: Clinical, laboratory and anatomopathological aspects. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo* 36, 67-76.

CHEIKH, A., BENKHALIFA, R., BESCOND, J., EL AYEB, M., RAYMOND, G., COGNARD, C., AND POTREAU, D. (2006). Depression of cardiac L-type calcium current by a scorpion venom fraction M1 following muscarinic receptors interaction involving adenylate cyclase pathway. *Toxicon* 48, 373-387.

CHIPPAUX, J.-P., AND GOYFFON, M. (2008). Epidemiology of scorpionism: a global appraisal. *Acta tropica* 107, 71-79.

DEHESA-DÁVILA, M., ALAGON, A., POSSANI, L., MEIER, J., AND WHITE, J. (1995). Clinical toxicology of scorpion stings. *Handbook of clinical toxicology of animal venoms and poisons*, 201-238.

DEHESA-DÁVILA, M., AND POSSANI, L.D. (1994). Scorpionism and serotherapy in Mexico. *Toxicon* 32, 1015-1018.

DE FIGUEIREDO, A.B., CUPO, P., PINTYA, A.O., CALIGARIS, F., MARIN-NETO, J.A., HERING, S.E., AND SIMÕES, M.V. (2010). Evaluación de la Perfusión y Función Miocárdicas en Víctimas de Escorpionismo Utilizando el Gated-SPECT. *Arq Bras Cardiol* 94, 426-435.

DUEÑAS, R. (2009). Valoración in – vivo del efecto tóxico, citotóxico y genotóxico del veneno del escorpión *Centruroides margaritatus* (Gervais 1841). Trabajo de grado (Bióloga). Universidad del Cauca. Facultad de Ciencias Naturales, Exactas y de la Educación. Programa Biología.

ESCOBAR, J.J.A. (2003). Manual de electrocardiografía (CIB).

FERRI, F.F. (2006). Ferri consultor clínico, 2006-2007: claves diagnósticas y tratamiento (Elsevier).

FET, V., SISSOM, W.D., LOWE, G., AND BRAUNWALDER, M.E. (2000). Catalog of the scorpions of the world (1758-1998) (New York Entomological Society).

FLOREZ, E. (2007). Los escorpiones: enigmáticas reliquias del pasado poco conocidas en Colombia. *Innovación Ciencia y Tecnología XIV, N°1*, 26-33.

FLÓREZ, E. (2001). ESCORPIONES DE LA FAMILIA BUTHIDAE (CHELICERATA: SCORPIONES) DE COLOMBIA Biota Colombiana, septiembre, año/vol. 2, número 001 Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt Bogotá, Colombia. Biota Colombiana 2, 25-30.

FREIRE-MAIA, L., CAMPOS, J., AND AMARAL, C. (1994). Approaches to the treatment of scorpion envenoming. *Toxicon* 32, 1009-1014.

FUSTER, V., ROSS, R., AND TOPOL, E.J. (1997). Aterosclerosis y enfermedad arterial coronaria (Springer).

GARDNER, L., AND HIATT, J. (2002). Texto y atlas de histología. Texto y Atlas de Histología.

GAZARIAN, K.G., GAZARIAN, T., HERNÁNDEZ, R., AND POSSANI, L.D. (2005). Immunology of scorpion toxins and perspectives for generation of anti-venom vaccines. *Vaccine* 23, 3357-3368.

GIRALDO, F.Y.M., J. (2000). Manual de electrocardiografía básica para el médico general.

GÓMEZ C, J.P., AND OTERO P, R. (2007). Ecoepidemiología de los escorpiones de importancia médica en Colombia. *Revista Facultad Nacional de Salud Pública* 25, 50-60.

GÓMEZ, J., QUINTANA, J.C., ARBELÁEZ, P., FERNÁNDEZ, J., SILVA, J.F., BARONA, J., GUTIÉRREZ, J.C., DÍAZ, A., AND OTERO, R. (2010). Picaduras por escorpión *Tityus asthenes* en Mutatá, Colombia: aspectos epidemiológicos, clínicos y toxicológicos. *Biomédica* 30, 126-139.

GUERON, M., ILIA, R., AND SOFER, S. (1993). Scorpion venom cardiomyopathy. *American Heart Journal* 125, 1816-1817.

GUERON, M., AND SOFER, S. (1991). Scorpion envenomation and the heart. *Journal of Wilderness Medicine* 2, 175-177.

GUERRERO-VARGAS, J.A. (2002). Aslamiento y caracterización de las neurotoxinas del veneno de escorpión *Centruroides margaritatus* (Buthidae) del valle de Patia Cauca., 77. Trabajo de grado (Biólogo). Universidad del Cauca. Facultad de Ciencias Naturales, Exactas y de la Educación. Programa Biología.

HALL, J.E. (2011). Guyton y Hall. Tratado de fisiología médica (Elsevier Health Sciences).

HANCK, D.A., AND SHEETS, M.F. (2007). Site-3 toxins and cardiac sodium channels. *Toxicon* 49, 181-193.

HEIDARPOUR, M., ENNAIFER, E., AHARI, H., SRAIRI-ABID, N., BORCHANI, L., KHALILI, G., AMINI, H., ANVAR, A.A., BOUBAKER, S., EL-AYEB, M., *ET AL.* (2012). Histopathological changes induced by *Hemiscorpius lepturus* scorpion venom in mice. *Toxicon* 59, 373-378.

HERING, S., JURCA, M., VICHI, F., AZEVEDO-MARQUES, M., AND CUPO, P. (1992). 'Reversible cardiomyopathy' in patients with severe scorpion envenoming by *Tityus serrulatus*: evolution of enzymatic, electrocardiographic and echocardiographic alterations. *Annals of tropical paediatrics* 13, 173-182.

HERNÁNDEZ, A., AND DRUCKER, R. (2005). Mecanismos de transporte 2. Canales proteicos. *Fisiología médica México DF: Manual Moderno*, 63-83.

ISMAIL, M. (1995). The scorpion envenoming syndrome. *Toxicon* 33, 825-858.

IZQUIERDO, L.M., AND RODRÍGUEZ BUITRAGO, J.R. (2012B). Cardiovascular dysfunction and pulmonary edema secondary to severe envenoming by *Tityus pachyurus* sting. Case report. *Toxicon* 60, 603-606.

JIMÉNEZ-VARGAS, J.M., RESTANO-CASSULINI, R., AND POSSANI, L.D. (2012). Toxin modulators and blockers of hERG K⁺ channels. *Toxicon* 60, 492-501.

KHATTABI, A., SOULAYMANI-BENCHEIKH, R., ACHOUR, S., AND SALMI, L.-R. (2011). Classification of clinical consequences of scorpion stings: consensus development. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 105, 364-369.

KILLINGER, G., FERNÁNDEZ, P., TEIJEIRO, R., GARRO, H.A., SÁNCHEZ, R.A., CHIALE, P.A., AND ÁLVAREZ, C.B. (2005). Bloqueo AV de alto grado transitorio por compromiso nodal y acción vagal en un deportista¿ Es necesaria la electroestimulación cardíaca permanente? *Revista argentina de cardiología* 73, 463-465.

KUMAR, V., COTRAN, R.S., AND ROBBINS, S.L. (2008). *Patología humana* (Elsevier Health Sciences).

LÓPEZ, S.R. (1995). *Manual de prácticas de fisiología animal veterinaria* (EDITUM).

LORENTZ, M., AND BRANDÃO, S. (2011). *Arritmias cardíacas y anestesia*.

LOURENÇO, W., EICKSTEDT, V.V., CARDOSO, J., FRANÇA, F., WEN, F., AND MÁLAQUE, C. (2003). Escorpiones de importância médica. CARDOSO JLC et al Animais Peçonhentos no Brasil Biologia, Clínica e Terapêutica dos Acidentes SARVIER, São Paulo.

LLORET, J., MUÑOZ, J., ARTIGAS, V., ALLENDE, L., AND ANGUERA, I. (1996). Protocolos terapéuticos de urgencias (Springer Ibérica).

MATTHEW, N., KOEPPEN, B., AND STANTON, B. (2006). Fundamentos de Fisiologia (Elsevier, Rio de Janeiro).

MCMORN, S., HARRISON, S., ZANG, W., YU, X., AND BOYETT, M. (1993). A direct negative inotropic effect of acetylcholine on rat ventricular myocytes. American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology 265, H1393-H1400.

MORALES, H., ALVEZ, E., CAVALCANTE, H., BLOCH, J., CRUZ, J., RESTANO, R., POSSANI, L., FERRONI, E. (2013). New K⁺/⁻ Channels blockers from *Tityus* sp venom gland. (Universidade de Brasília, Brasília-DF-Brazil.).

MORALES, H., AND GUERRERO-VARGAS, J.A. (2011). Determinacion de la actividad neurotoxica y antimicrobiana del veneno del escorpion *Tityus* sp (Buthidae) del municipio de Popayán, Cauca. Trabajo de grado (Biólogo). Universidad del Cauca. Facultad de Ciencias Naturales, Exactas y de la Educación. Programa Biología.

MURTHY, K.K. (2000). The scorpion envenoming syndrome: a different perspective. The physiological basis of the role of insulin in scorpion envenoming. Journal of Venomous Animals and Toxins 6, 04-51.

NELSON, R.W., COUTO, C.G., KING, C., AND SÁNCHEZ, M.R. (2000). Manual de medicina interna de pequeños animales (Harcourt).

OLIVA, S.B., ABID-ALÍ, M.B., AND BRAVO, S.O. (2012). Bloque aurículo-ventricular congénito. Reporte de un caso y revisión de la literatura. Revista Cubana de Cardiología y Cirugía Cardiovascular 15, 56-60.

OTERO, R., NAVÍO, E., CÉSPEDES, F., NÚÑEZ, M., LOZANO, L., MOSCOSO, E., MATA LLANA, C., ARSUZA, N., GARCÍA, J., AND FERNÁNDEZ, D. (2004). Scorpion envenoming in two regions of Colombia: clinical, epidemiological and therapeutic aspects. Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene 98, 742-750.

PINTO, M., MELO, M., CRUZ, M., VERÇOSA JUNIOR, D., AND MELO, M. (2010B). Cardiorespiratory evaluation of juvenile rats experimentally envenomed

with *Tityus serrulatus* venom. Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases 16, 253-267.

PINTO, M.C.L., BORBOLETA, L.R., MELO, M.B., LABARRÈRE, C.R., AND MELO, M.M. (2010C). *Tityus fasciolatus* envenomation induced cardio-respiratory alterations in rats. Toxicon 55, 1132-1137.

POSSANI, L.D., BECERRIL, B., DELEPIERRE, M., AND TYTGAT, J. (1999). Scorpion toxins specific for Na⁺-channels. European Journal of Biochemistry 264, 287-300.

RIBEIRO, E., PINTO, M., LABARRÈRE, C., PAES, P., PAES-LEME, F., CHÁVEZ-OLÓRTEGUI, C., AND MELO, M. (2010). Biochemical profile of dogs experimentally envenomed with *Tityus serrulatus* scorpion venom. Toxicon 55, 1125-1131.

RICHARDSON, M.S. (2004). ENCICLOPEDIA DE LA SALUD: Qué debemos hacer para disfrutar de una buena salud (Editorial AMAT).

RIVERA, C., FLORES, L., PANTIGOSO, C., AND ESCOBAR, E. (2010). Aislamiento y caracterización de un péptido antibacteriano del veneno de *Centruroides margaritatus*. Revista Peruana de Biología 17, 129-132.

RODRÍGUEZ-VARGAS, A.L. (2012). Comportamiento general de los accidentes provocados por animales venenosos en Colombia, 2006-2010. Revista de Salud Pública 14, 101-110.

SALDARRIAGA CÓRDOBA, M.M., AND OTERO PATIÑO, R. (2000). Los escorpiones: aspectos ecológicos, biológicos y toxicológicos; Scorpions: ecological, biological and toxinological aspects. Medunab 3, 17-23.

SAMPÓ, E.A. (2005). Consenso de fibrilación auricular. Revista argentina de cardiología 73, 470-485.

SANTALÓ BEL, M., GUINDO SOLDEVILA, J., AND ORDÓÑEZ LLANOS, J. (2003). Marcadores biológicos de necrosis miocárdica. Revista española de cardiología 56, 703-720.

TEIXEIRA JR, A., FONTOURA, B., FREIRE-MAIA, L., MACHADO, C., CAMARGOS, E., AND TEIXEIRA, M. (2001). Evidence for a direct action of *Tityus serrulatus* scorpion venom on the cardiac muscle. Toxicon 39, 703-709.

TEIXEIRA JR, A.L., AND TEIXEIRA, M.M. (2003). Mechanisms involved in myocardial necrosis and pulmonary oedema after *Tityus serrulatus* scorpion

envenomation. Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene 97, 122-123.

TOMASSONE, R., VAINSTUB, V., PEIRANO, S., DE CUIDADOS, S., PEDIÁTRICOS, I., FE, S., AND TOMASSONE, R. (2003). Envenenamiento grave por escorpión en Pediatría. Archivos Argentino de Pediatría 101, 392-397.

URROZ, C. (1991). Elementos de anatomía y fisiología animal (EUNED).

VASUDEVAN, D.M., AND SREEKUMARI, S. (2012). Texto de Bioquímica para Estudiantes de Medicina/Text of Biochemistry for Medical Students (JP Medical Ltd).

WOODCOCK, E.A., AND MATKOVICH, S.J. (2005). Cardiomyocytes structure, function and associated pathologies. The international journal of biochemistry & cell biology 37, 1746-1751.

YATANI, A., KIRSCH, G., POSSANI, L., AND BROWN, A. (1988). Effects of New World scorpion toxins on single-channel and whole cell cardiac sodium currents. American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology 254, H443-H451.

ZAYERZADEH, E., KOOHI, M., ZARE MIRAKABADI, A., PURKABIREH, M., KASSAAIAN, S., RABBANI, S., SOTOUDEH ANVARI, M., BOROUMAND, M., AND SADEGHIAN, S. (2010). Cardiopulmonary complications induced by Iranian *Mesobuthus eupeus* scorpion venom in anesthetized rabbits. Journal of venomous animals and toxins including tropical diseases 16, 46-59.