



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA
DE AGUASCALIENTES**

Centro de ciencias básicas
Departamento de fisiología y farmacología
Maestría en ciencias
Área toxicología

**Efectos curativos y preventivos de antioxidantes (α -
tocoferol y quercetina) en los signos y síntomas
cardiovasculares presentados en la intoxicación por el
veneno de *Centruroides infamatus***

Tesis que para obtener el grado de Maestra en Ciencias
En el Área de Toxicología, presenta:

LAQB. Leticia Angélica Ledesma Espinoza

Tutores:

Dr. Eduardo de la Cerda González

Dr. Fernando Jaramillo Juárez

Comité Tutorial:

Dr. Francisco A. Posadas Del Rio




UNIVERSIDAD AUTÓNOMA
DE AGUASCALIENTES

Dr. José de Jesús Ruíz Gallegos
Decano del centro de Ciencias Básicas
Presente

Por este medio le comunico que he revisado la versión final del escrito de tesis "Efectos curativos y preventivos de antioxidantes (α -tocoferol y quercetina) en los signos y síntomas cardiovasculares presentados en la intoxicación por el veneno de *centruroides infamatus*" presentada por la alumna L.A.Q.B. Leticia Angélica Ledesma Espinoza como requisito para obtener el grado de Maestría en Ciencias en el área de Toxicología. A mi juicio, este documento contiene ya todas las correcciones solicitadas por un servidor al hacer revisión del mismo. Por lo anterior considero que se puede proceder ya a su impresión definitiva y a la programación de examen de grado.

ATENTAMENTE
"SE LUMEN PROFERE"
Aguascalientes, Ags. 16 de mayo de 2013



Dr. Fernando Jaramillo Juárez
Tutor del Trabajo de tesis





Dr. José de Jesús Ruíz Gallegos
Decano del centro de Ciencias Básicas
Presente

Por este medio le comunico que he revisado la versión final del escrito de tesis "Efectos curativos y preventivos de antioxidantes (α -tocoferol y quercetina) en los signos y síntomas cardiovasculares presentados en la intoxicación por el veneno de *centruroides infamatus*" presentada por la alumna L.A.Q.B. Leticia Angélica Ledesma Espinoza como requisito para obtener el grado de Maestría en Ciencias en el área de Toxicología. A mi juicio, este documento contiene ya todas las correcciones solicitadas por un servidor al hacer revisión del mismo. Por lo anterior considero que se puede proceder ya a su impresión definitiva y a la programación de examen de grado.

ATENTAMENTE
"SE LUMEN PROFERE"
Aguascalientes, Ags. 16 de mayo de 2013


D en C. Eduardo de la Cerda González
Tutor del Trabajo de tesis



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA
DE AGUASCALIENTES

Dr. José de Jesús Ruíz Gallegos
Decano del centro de Ciencias Básicas
Presente

Por este medio le comunico que he revisado la versión final del escrito de tesis "**Efectos curativos y preventivos de antioxidantes (α -tocoferol y quercetina) en los signos y síntomas cardiovasculares presentados en la intoxicación por el veneno de *centruroides infamatus***" presentada por la alumna **L.A.Q.B. Leticia Angélica Ledesma Espinoza** como requisito para obtener el grado de Maestría en Ciencias en el área de Toxicología. A mi juicio, este documento contiene ya todas las correcciones solicitadas por un servidor al hacer revisión del mismo. Por lo anterior considero que se puede proceder ya a su impresión definitiva y a la programación de examen de grado.

ATENTAMENTE
"SE LUMEN PROFERE"
Aguascalientes, Ags. 16 de mayo de 2013

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'F. Posadas del Río'.

Dr. Francisco A. Posadas del Río
Tutor del Trabajo de tesis



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA
DE AGUASCALIENTES



ANIVERSARIO
UAA

Centro de Ciencias Básicas

L.A.Q.B. LETICIA ANGÉLICA LEDESMA ESPINOZA,
ALUMNO (A) DE LA MAESTRÍA EN
CIENCIAS EN EL ÁREA DE TOXICOLOGÍA
P R E S E N T E .

Estimado (a) alumno (a) Ledesma:

Por medio de este conducto me permito comunicar a Usted que habiendo recibido los votos aprobatorios de los revisores de su trabajo de tesis y/o caso práctico titulado: **"Efectos curativos y preventivos de antioxidantes (α -tocoferol y quercetina) en los signos y síntomas cardiovasculares presentados en la intoxicación por el veneno de *centruroides infamatus*"**, hago de su conocimiento que puede imprimir dicho documento y continuar con los trámites para la presentación de su examen de grado.

Sin otro particular me permito saludarle muy afectuosamente.

A T E N T A M E N T E
Aguascalientes, Ags., 17 de mayo de 2013
"SE LUMEN PROFERRE"
EL DECANO SUSTITUTO

M. en C. JOSÉ DE JESÚS RUIZ GALLEGOS



c.c.p.- Archivo
JJRG,mjda

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Eduardo de la Cerda por su gran apoyo y motivación; al Dr. Fernando Jaramillo por su apoyo ofrecido en este trabajo; Dr. Salvador Acevedo por su tiempo y conocimiento compartido, al Dr. Francisco Posadas por apoyarme en su momento.

A mis padres y hermanos por todo su apoyo, y entusiasmo durante todo el tiempo de estudio de la maestría.

Al Biol. David Santiago García por su gran apoyo y tiempo que me regalo, por compartirme de todo su conocimiento que me ayudo a la realización de mi tesis y su gran amistad.

A todos los compañeros de biología (Roció, Juan, Norma, Daniel, Blanca) por ayudarnos y acompañarnos a la colecta de especímenes y siempre estas dispuestos a colaborar.

A mi Novio Juan Pablo Martínez por toda su comprensión, cariño y cooperación brindando ideas, entusiasmo, animo, comprensión y apoyo.

A Gwendolyn Huerta por la amistad y apoyo que me dio durante el estudio de la maestría.

INDICE

I. Resumen.....	1
2. Abstract.....	3
2. Introducción.....	4
2.1 Características de los alacranes.....	5
2.2 Características diferenciales de los alacranes peligrosos.....	8
3. Antecedentes.....	9
3.1 Características del veneno de alacrán.....	11
3.2 Cuadro clínico del Alacranismo.....	13
3.3 Fisiopatología.....	14
3.3.1 Cardiovascular.....	14
3.4 Tratamiento contra el Alacranismo.....	17
3.4.1 Antiveneno.....	18
3.5 Antioxidantes.....	18
3.5.1 Quercetina.....	20
3.5.1.1 Efecto antioxidante.....	21
3.5.1.2 Seguridad de la quercetina.....	22
3.5.2 Vitamina E.....	22
3.5.2.1 Propiedades antioxidantes de la vitamina E.....	24
3.5.2.2 Toxicidad de la vitamina E.....	25
4. Justificación.....	26
5. Hipótesis.....	27
6. Objetivos.....	27
7. Materiales y Métodos.....	27
7.1 Extracción de veneno.....	27
7.2 Animales de experimentación.....	28
7.3 Preparación de antioxidantes.....	28
7.4 Dosis de veneno de alacrán.....	29
7.5 Tratamientos.....	29
7.6 Medición de la presión arterial y electrocardiograma.....	30
7.7 Análisis estadístico.....	31

8. Resultados.....	32
8.1 Caracterización de los cambios electrocardiográficos presentados por el enseñamiento por <i>Centruroides infamatus</i>	32
8.2 Determinación de la dosis de veneno a utilizar.....	36
8.3 Tratamiento con antioxidantes.....	40
8.3.1 Tratamientos preventivos con Quercetina y Vitamina E.....	42
8.3.1.1 Presión Arterial.....	42
8.3.1.2 Electrocardiograma.....	43
8.3.1.3 Muertes y presencia de signos y síntomas.....	46
8.3.2 Tratamiento curativo con Quercetina y Vitamina E (dosis únicas).....	48
8.3.2.1 Presión arterial.....	48
8.3.2.2 Electrocardiograma.....	49
8.3.2.3 Muertes y presencia de signos y síntomas.....	53
9. Discusiones.....	55
10. Conclusiones.....	61
Bibliografía.....	65

INDICE FIGURA

Fig. 1. Distribución geográfica de diferentes especies de *Centruroides* en la República Mexicana. 5

Fig. 2. Vista Frontal de *Centruroides infamatus*. 6

Fig. 3. Vista ventral de *Centruroides infamatus*..... 7

Fig. 4. Fotografías que muestran gotas de veneno del *C.infamatus* con distintas características..... 13

Fig. 5. Comparación de la estructura de los flavonoides y la quercetina..... 20

Fig. 6. Estructura química de la vitamina E..... 23

Fig. 7. Extracción del veneno..... 28

Fig. 8. Aplicación del veneno por vía su dérmica.. 29

Fig. 9. Colocación de los electrodos para el Registro de ECG en derivación DII en la rata Wistar. 31

Fig. 10. Electrocardiograma control en rata Wistar. 32

Fig. 11. Registro característico en derivación DII de la rata Wistar. 32

Fig. 12. Cambios fisiológicos a los 5 minutos después de inyectar 2.0 µL de veneno de *Centruroides infamatus*..... 33

Fig. 13. Registro del ECG a los 10 minutos de inoculación de 2µl de veneno de *C.infamatus* FC.de 420 latidos por minuto. 33

Fig. 14. Trazo a los 10 minutos de inoculación en el que se aprecia Q profunda, Tiempo prolongado de la Deflexión Intrínsecoide (TDI) de 65 mseg (normal 25 mseg promedio) con bloqueo incompleto de rama izquierda 34

Fig. 15. Registro del ECG a los 12 minutos de inoculación de 2µl de veneno de *C.infamatus* aparece bradicardia y bloqueo AV de 2º Grado tipo Mobitz II..... 34

Fig. 16. Fibrilación ventricular a los 25 minutos de inoculación de 2µl de veneno de *C infamatus*..... 35

.

Fig. 17. Modificaciones en la Presión Arterial Media con un valor promedio normal de 97 mmHg, de la rata Wistar n=50 indicando la DE de la curva con aplicación de 2µl de veneno puro de *C infamatus* a los 20 minutos del control. 35

Fig. 18. Registro de electrocardiograma con inoculación de 0.10µL de veneno..... 35

Fig. 19. Registro de electrocardiograma a los 45 minutos de aplicación de 0.10µL de veneno.

Fig. 20. Registro electrocardiográfico de rata Wistar inoculada con 0.20 µL de veneno.....	36
Fig. 21. Electrocardiograma donde se muestra el inicio de los cambios en la inoculación de 0.20 µL de veneno a los 40 minutos.....	37
Fig. 22. Registro de electrocardiograma al momento de la inoculación de 0.25 µL de veneno de alacrán.....	37
Fig. 23. Registro de electrocardiograma a los 20 minutos de inoculación de veneno.....	38
Fig. 24. Electrocardiograma con características normales al momento de inocular 0.5 µL de veneno de <i>C infamatus</i>	38
Fig. 25. Se observa el inicio de los cambios del electrocardiograma a los 17 minutos al aplicar 0.5 µL de veneno. Se observa un bloqueo de 2° grado.	39
Fig. 26. Registro de electrocardiograma al momento de la aplicación de 1 µL de veneno de <i>C infamatus</i>	39
Fig. 27. Rata con peritonitis, presencia de hemorragias y necrosis (grupo 4).....	40
Fig. 28. Rata con peritonitis fibrinosa, bridas fibroticas con presentación de tejido gastrointestinal necrosado, presencia de olores de tejido necrótico (grupo 8).....	41
Fig. 29. Presencia de pio peritonitis (nódulos de pus debido a la respuesta del peritoneo a los agentes externos, múltiples focos inflamatorios (grupo 3)	41

INDICE GRAFICOS

Graf. 1. Presión arterial presentada por los diferentes tratamientos preventivos..... 42

Graf. 2. Frecuencia cardiaca en ratas con tratamiento preventivo. 43

Graf. 3. Tiempo del segmento PR en milisegundos..... 44

Graf. 4. Tiempo del complejo QRS en milisegundos..... 45

Graf. 5. La grafica presenta alteraciones en la onda T presentadas durante la intoxicación con veneno de *C infamatus*, en porcentajes..... 46

Graf. 6. Porcentaje de muertes a la hora de inoculación de veneno, en los diferentes tratamientos. (Ratas control con veneno y sin antioxidantes)..... 47

Graf. 7. Se observa los porcentajes de ratas que presentan diferentes signos por la intoxicación del veneno de alacrán en cada tratamiento utilizado..... 48

Graf 8. Muestra las presiones iniciales, mínima y máxima de cada tratamiento utilizado en dosis únicas..... 48

Graf. 9. Muestra la frecuencia cardiaca inicial, mínima y máxima de cada tratamiento utilizado en dosis únicas..... 49

Graf 10: Tiempo del segmento QRS en milisegundos. Tomado antes de la aplicación del veneno y a los 30 minutos después de la aplicación del veneno..... 50

Graf. 11: Tiempo del complejo QRS en milisegundos en ratas tratadas con antioxidantes con dosis única comparadas con ratas controles (Inoculación de veneno, sin antioxidantes)..... 51

Graf. 12. Muestra las modificaciones en la onda T presentada los diferentes tratamientos con antioxidantes, comparada con los obtenidos con los controles (Inoculados con veneno, sin antioxidantes)..... 52

Graf. 13. Comparacion de las muertes presentadas en porcentaje por los diferentes grupos tratados con antioxidantes con dosis unica, con los controles (inoculados con veneno, sin antioxidantes)..... 53

Graf 14: Signos y síntomas presentados por la intoxicación de veneno de *C infamatus* en grupos tratados con antioxidantes con dosis únicas, comparados con el grupo control (inoculados con veneno, sin tratamiento de antioxidantes)..... 54

1. RESUMEN

En México habitan aproximadamente 130 especies y subespecies de alacranes todas pertenecientes al género *Centruroides*, familia Buthidae, en Aguascalientes, principalmente en Calvillo, se encuentra el *Centruroides infamatus*. En México las picadura de *Centruroides* son muy importantes, en el año 2008, se registraron en 271 440 picaduras de alacrán; de ellas, 1 933 fueron en Aguascalientes.

El veneno de los alacranes *Centruroides* está formado por proteínas de bajo peso molecular llamada escorpaminas las cuales estimulan los canales de Na^+ , K^+ , Ca^+ activados por voltaje, lo cual causa una liberación súbita de catecolaminas provocando alteraciones cardiovasculares. Además las escorpaminas presentan efecto directo sobre las células excitables como el sistema cardiovascular.

Se sabe que el α – tocoferol reduce la incidencia de arritmias cardiacas y la quercetina disminuye infartos al miocardio. Por ello este trabajo tiene la hipótesis de estos antioxidantes previenen y actúan como coadyuvantes mejorando los signos y síntomas cardiovasculares generados por la intoxicación con el veneno de *Centruroides infamatus*. Para ello se colectaron alacranes de Calvillo de los cuales se les extrajo veneno para aplicarlos a ratas Wistar macho, en este experimento se logro caracterizar los cambios electrocardiográficos presentados por el envenenamiento por picadura de *C.infamatus*. Se puede observar un aumento de la frecuencia cardiaca y cambios en el ritmo cardiaco, además se obtuvo la dosis mínima toxica.

Los efectos cardiovasculares presentados por el alacrán *Centruroides Infamatus* con alteraciones en la contractibilidad del miocardio, incrementos en los requerimientos de oxígeno y acumulación de calcio lo que se observa en alteraciones electrocardiográficas en la onda T, trastornos de la conducción auriculoventricular, trastornos del ritmo cardiaco, de la repolarización ventricular, trastornos de la conducción interventricular, incrementos y disminuciones de la presión arterial. Además de presentan síntomas sialorrea, disnea y relajación de esfínteres.

Se observo que al aplicar antioxidantes de forma preventiva existe disminuci3n de los signos y sntomas presentados por el envenenamiento por la picadura de *Centruroides* Infamatus. Adem3s de la disminuci3n de alteraciones electrocardiogr3ficas como bradicardias, taquicardias, modificaciones de la onda T, alteraciones en el complejo QRS y disminuci3n de las presi3n arterial m3xima y m3nima presentada.



2. ABSTRACT

In Mexico there are approximately 130 species and subspecies of scorpions of the genus *Centruroides* all, Buthidae family in Aguascalientes, mainly in Calvillo, is the *Centruroides infamatus*. In Mexico the *Centruroides* sting are very important, in 2008, 271 440 were recorded in scorpion stings, of whom 1933 were in Aguascalientes.

The venom of scorpions *Centruroides* comprises low molecular weight proteins which stimulate escorpaminas call channels Na +, K +, Ca + voltage-activated, which causes a sudden release of catecholamines leading to cardiovascular disorders. Besides the direct effect on escorpaminas present excitable cells including the cardiovascular system.

It is known that α - tocopherol reduces the incidence of cardiac arrhythmias and myocardial infarction quercetin decreases. Therefore, this study has hypothesized these antioxidants prevent and act as adjuvants to improve cardiovascular signs and symptoms caused by poisoning with the venom of *Centruroides infamatus*. For this Calvillo scorpions were collected which was extracted poison to apply to male Wistar rats in this experiment was achieved electrocardiographic changes characterize poisoning presented by *C.infamatus* bite. One can observe an increased heart rate and changes in heart rate, besides obtaining the minimum toxic dose.

Cardiovascular effects presented by the scorpion *Centruroides infamatus* with impaired myocardial contractility, increased oxygen requirements and calcium build what is observed in electrocardiographic changes in the T wave, atrioventricular conduction disorders, heart rhythm disorders, of ventricular repolarization, interventricular conduction disturbances, increases and decreases in blood pressure. Besides drooling symptoms, dyspnea and relaxation of sphincters.

It was observed that applying preventive antioxidants decrease there signs and symptoms presented by poisoning infamatus *Centruroides* sting. Besides decreasing electrocardiographic abnormalities as bradycardia, tachycardia, T wave changes, alterations in the QRS complex and decreased maximum and minimum blood pressure presented.

2. INTRODUCCION.

Los alacranes son animales muy antiguos: se calcula que existen en nuestro planeta desde hace unos 400 millones de años. Durante ese tiempo han desarrollado muchos mecanismos para defenderse de sus agresores y para capturar a las presas de las que se alimentan (Domingos, 2005). Conquistaron casi todos los ambientes ecológicos, pero sobre todo se distribuyeron en las regiones tropicales y subtropicales de la tierra. Se han adaptado perfectamente a los ambientes desérticos de clima caliente, como el que existe en México (Hoffman). En efecto, la fauna de alacranes de México es una de las más diversas del mundo y, sin embargo, está poco estudiada. Si se compara la diversidad de la fauna de otros países con la nuestra, se puede observar una gran diferencia (cuadro 1).

	Numero familias	Numero géneros	Numero especies	Especies endémicas	% de endemismo
México	7	20	200	168	84.4
Madagascar	4	9	37	37	100
Colombia	4	9	49	39	79.6
Guayana	3	10	34	23	76.5
Brasil	4	16	89	62	69.7
Ecuador	5	8	36	24	66.7
Sudáfrica	4	12	136	43	31.6

Tabla 1. Comparación del número de taxones de escorpiones y porcentaje de endemismo de algunos países del mundo (Modificado de Lourenco, 2000).

En México habitan aproximadamente 130 especies y subespecies de alacranes todas pertenecientes al género *Centruroides*, familia Buthidae, pero solo siete son de importancia médica: *C. limpidus limpidus*, *C. limpidus tecomanus*, *C. infamatus*, *C. suffusus*, *C. noxius*, *C. elegans* y *C. sculpturatus*. Todas estas especies y subespecies se localizan en las regiones occidental y central del país (Celis et al, 2007).

La distribución geográfica específica del género *Centruroides* con importancia en la salud pública es: *C. elegans* (Nayarit, Jalisco, Michoacán, Colima y Guerrero), *C. infamatus infamatus* (Zacatecas, Aguascalientes, Guanajuato y Michoacán), *C. limpidus limpidus* (Colima, Morelos y Guerrero), *C. limpidus tecomanus* (Colima), *C. noxius* (Nayarit), *C. pallidiceps* (Sonora, Sinaloa y Arizona EUA), *C. sculpturatus* (Sonora; Arizona y Nuevo México EUA), *C. suffusus suffusus* (Durango). Los estados de Colima, Guanajuato, Guerrero, Jalisco, Michoacán, Morelos, Nayarit, Puebla y Sinaloa, presentan la mayor incidencia de picadura de alacrán (fig 1) (Jimenez, 2004).

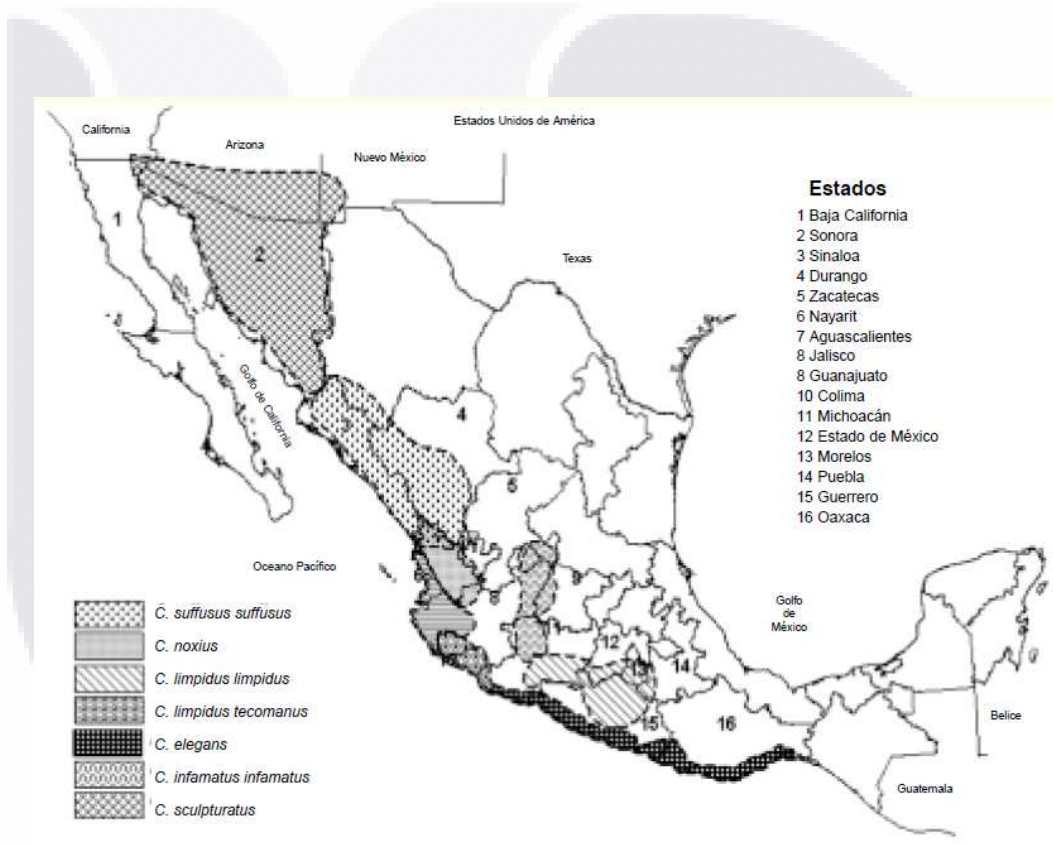


Fig. 1. Distribución geográfica de diferentes especies de *Centruroides* en la República Mexicana.

2.1 Características de los alacranes

El cuerpo de un escorpión se divide en dos regiones principales, el prosoma cubierto dorsalmente por el carapacho y que lleva los ojos medios y los laterales, y el opistosoma que se

subdivide en el mesosoma en posición anterior por detrás del prosoma, y el metasoma posterior, delgado a manera de cola y que lleva en su extremo terminal del telson con una vesícula que alberga el par de glándulas de veneno y un aguijón mediante el cual lo inocula (Díaz). El prosoma es una fusión de segmentos a otros segmentos que presentan apéndices locomotores, el cual a su vez está formado por el acrón y seis segmentos. El queliceral, el pedipedal, son cuatro apéndices podiales, de las cuales, sólo el acrón, el queliceral y el pedipedal son cefálicos. Los quelicéridos del alacrán están formados por dos orjejos, a manera de pinzas, para sujetar a sus presas, como órganos de cópula o para asir a la hembra, entre otras cosas. El alacrán posee cuatro patas, cada pata se compone de coxa, trocánter, fémur, paleta, tibia, tarso y pretarso (Granja y Chico, 1999).

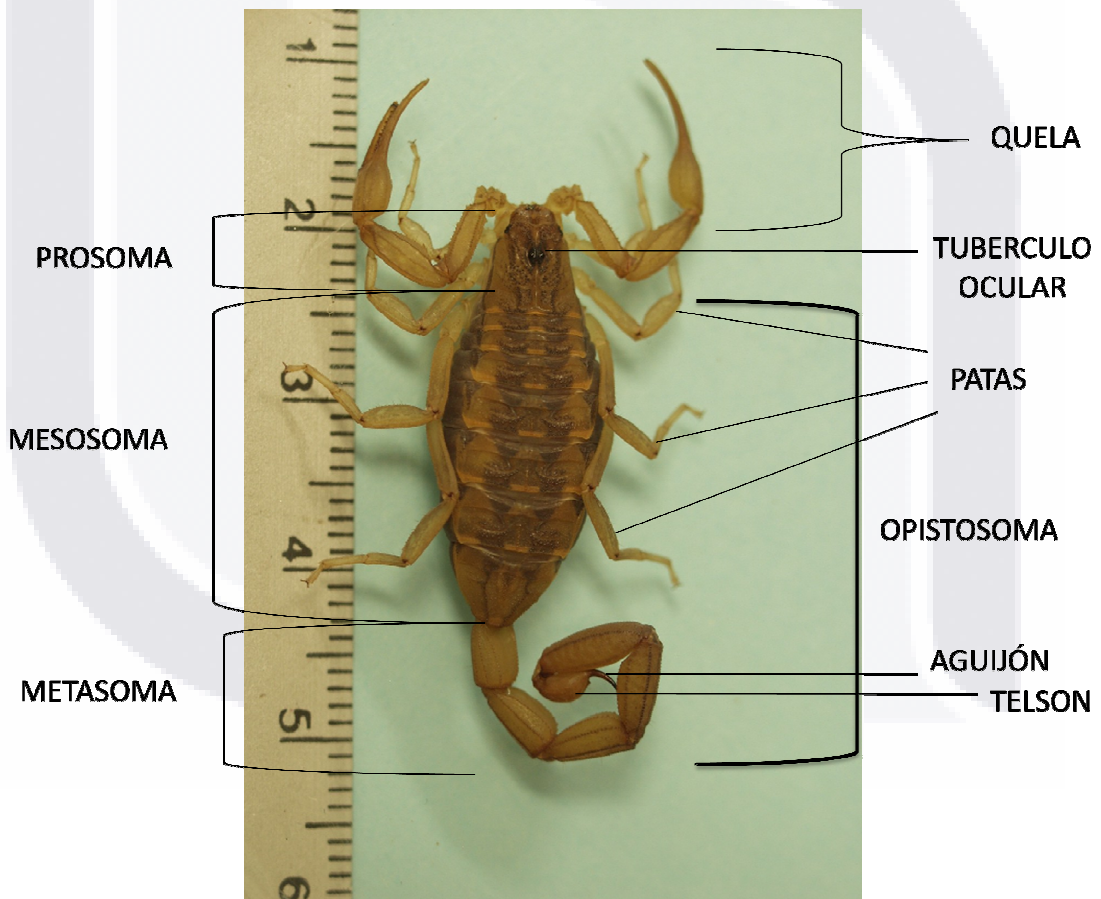


Fig. 2. Vista Frontal de *Centruroides infamatus*.

El mesosoma está dividido en siete segmentos, en su cara inferior el primer segmento contiene el opérculo genital que en la hembra esta formado por dos valvas y en el macho por dos papilas. En el segundo segmento se encuentra un par de órganos que son característicos de los alacranes, los peines (llamados así por que su aspecto recuerda la forma de un peine), en numero de dos, que les ayudan a detectar vibraciones y al parecer el calor que emiten sus victimas; además juegan un papel importante en el acercamiento sexual previo a la copula (Díaz). El metasoma es la región abdominal estrecha y cilíndrica. Está formada por cinco segmentos y el telson, la última estructura, que contiene las glándulas venenosas y el aguijón, una espina hueca con forma de aguja situada en la parte distal con la que intoxican a presas o posibles depredadores (Bücherl W, 1971).

El color del escorpión puede variar entre los individuos adultos de una misma especie así como también entre los diferentes estadios juveniles, lo que limita la utilidad de este atributo en taxonomía, a pesar de que su uso ha sido tradicional y en algunos casos único recurso para distinguir especies (Díaz, D.).



Fig. 3. Vista ventral de *Centruroides infamatus*.

2.2 Características diferenciales de los alacranes peligrosos.

Hay tres datos importantes que se deben conocer para saber si un alacrán es peligroso para el humano: 1) la zona geográfica, 2) el color del alacrán y 3) algunas características externas fáciles de observar, aún por personas no expertas en alacranes (Celis A., et al, 2007)

Al respecto, si el individuo se encuentra en la zona del Océano Pacífico, incluyendo áreas del centro del país (Durango, Guanajuato, norte del Estado de México), puede ser que el piquete del alacrán sea de una especie peligrosa; de lo contrario, el problema no se considera grave (Granja V. Martínez R., Chico P., 1999) . Usualmente el alacrán peligroso es de color amarillo claro o color paja, también conocido como alacrán güero. Tiene manchas oscuras en el dorso que le dan un aspecto rayado. Los alacranes negros, como los que habitan el Pedregal de San Ángel, en el Distrito Federal, no son peligrosos para los humanos. Pero se debe tener cuidado con el alacrán de Nayarit, de color oscuro medio rojizo, porque es el que tiene la ponzoña más potente de todos los alacranes de México (C. Noxius) (Díaz, P).

Finalmente, el extremo de la cola del alacrán, donde están el aguijón y el par de glándulas del veneno, puede ser útil para distinguir un posible alacrán peligroso. Los segmentos de la cola son de forma cilíndrica en los animales peligrosos y cúbicos en los no peligrosos. Además, los alacranes esbeltos con pinzas largas y delgadas, esto es, con extremidades frágiles y aparentemente débiles, son potencialmente peligrosos. Los que tienen las pinzas gruesas y fuertes no contienen ponzoña dañina para los humanos. Estos datos son solamente indicativos de algunas características externas importantes que pueden ayudar a diferenciar un alacrán peligroso de uno no peligroso para los humanos (Gutiérrez I., et al, 2011).

3. ANTECEDENTES.

En México, las intoxicaciones por picadura de *Centruroides* son muy importantes, ya que se registran los más altos índices de morbilidad en el mundo (cuadro 3).

Año	Tasa (numero)	%
1996	139,103	11.21
1997	129,337	10.42
1998	161,121	12.98
1999	160,000	12.89
2000	200,000	16.11
2001	221,803	17.07
2002	229,832	18.52
Total	1'241,196	100

Tabla 2. Tasas de intoxicaciones por alacranes en México (1996 – 2002)

En el cuadro 4 se observa el número y la tasa acumulados de morbilidad por entidad federativa durante el año 2002. El número de defunciones y la tasa ajustada de defunciones pos-picadura de alacrán, de 1996 al año 2002, se observa en el cuadro 5.

Entidad Federativa	No. Picaduras	Tasa de mortalidad
Aguascalientes	3,666	390
Baja california Sur	71	19
Colima	12,626	2,955
Durango	13,129	957
Guanajuato	338,148	7,682
Guerrero	209,434	7,179
Jalisco	835,621	13,952
México	122,892	1,025
Michoacán	332,763	8,342

Morelos	139,875	9,694
Nayarit	28,798	3,212
Oaxaca	38,534	1,192
Puebla	196,907	4,253
Querétaro	12,861	1,232
Sinaloa	28,036	1,150
Sonora	23,763	1,142
Zacatecas	9,704	729
Total	2'346,528	65,196

Tabla 3. Número y tasas de mortalidad acumuladas por picadura de alacrán por entidad federativa durante el año 2002.

Año	1996	1997	1998	1999	2000	2001	2002	Total
No.	168	140	136	148	166	184	191	1133
Tasa	0.18	0.15	0.14	0.17	0.18	0.19	0.20	1.21

Tabla 4. Número de defunciones y tasa ajustada de mortalidad por picadura de alacrán en México. (1996 – 2002).

Los grupos de edad más frecuentemente afectados por *Centruroides* son los escolares y adultos jóvenes; sin embargo, las mayores tasas de mortalidad se presentan en los niños pequeños y ancianos (cuadro 5).

Edad en años	No. casos	%
Menores de 1 año	1,137	1.88
De 1 a 4	6,180	10.20
De 5 a 14	12,630	20.84
De 15 a 44	29,376	48.48
Mayores de 44	11,271	18.60
Total	60,594	100

Tabla 5. Frecuencia de picadura de alacrán por grupos etarios.

Los sitios atacados con más frecuencia son los miembros inferiores, aunque también puede ser cualquier otro sitio del cuerpo. Esto es importante, ya que dependiendo de ello y de la rápida instauración del tratamiento, será el pronóstico del accidente, pues los síntomas comienzan dentro de los 20 a 40 minutos después de la picadura (cuadro 6).

Tiempo transcurrido después de la picadura (min)	Grado de severidad del cuadro clínico (%)		
	Leve	Moderado	Severo
0-30	46.6	36.6	38.7
31-60	20.5	26.8	28.5
61-90	2.7	9.8	14.6
91-120	4.2	2.4	2
Más de 120	5.5	14.6	12.2
Desconocido	20.5	9.8	4

Cuadro 6. Comparación entre el grado de severidad del cuadro clínico y el tiempo transcurrido de la picadura de alacrán.

La Secretaría de Salud menciona que el número de accidentes por año se ha ido incrementando. Sin embargo, se estima que estos datos representan un 25% del total de accidentes, ya que probablemente existe un subregistro de éstos. De acuerdo con los datos del Departamento de Epidemiología, anualmente se registran un promedio de 20 mil casos de intoxicación por picadura de alacrán y el grupo más afectado es el de 10 a 14 años. Este padecimiento se ubica como la 5ª causa de consulta en los servicios de salud, de ahí la importancia de mantener una vigilancia en las zonas con mayor riesgo. En el año 2008, se registraron en México 271 440 picaduras de alacrán; de ellas, 1 933 fueron en Aguascalientes (Gutiérrez I. et al., 2011).

3.1 Características del veneno de alacrán

El veneno es un líquido viscoso de aspecto opalescente y turbio, debido a su contenido de 15 a 25 % de sólidos. La sustancia activa es soluble en agua, solución salina y glicerina, pero insoluble en alcoholes (etílico y metílico), éter, cloroformo y acetona; el veneno tiene un pH de 6,

es insípido e irritante para las mucosas, aunque por vía digestiva carece de acción tóxica (Monroy J., Monroy JM, 1966). El veneno es rápidamente absorbido vía linfática y distribuido por la sangre en los tejidos en aproximadamente 5 -6 minutos, observándose el pico máximo de concentración alrededor de 37 minutos posteriores a la picadura (Carbajal J., Pastrana E., Chávez M., 1999).

El veneno de los alacranes *Centruroides* está formado por proteínas de bajo peso molecular (700 DA), polipéptidos, a las que se les conoce como escorpaminas. Las escorpaminas llegan rápidamente a la circulación general y si son provenientes de especies muy venenosas, en minutos pueden matar mamíferos pequeños. Algunas de estas proteínas actúan a nivel de los canales iónicos retardando la liberación de Na⁺ y prolongando así el potencial de acción, con aumento del tiempo para integrar la corriente generada por las membranas excitables de las células efectoras, y otras incrementan la liberación de acetilcolina y catecolaminas a nivel sináptico, tanto en las terminaciones musculo-esqueléticas como en las neuronas ganglionares (Bosmans F., Tytgat J., 1997).

Entre las escorpaminas se encuentran tres grandes familias:

- 1) Las de cadena corta (31 a 39 aminoácidos) que son específicas para el bloqueo de canales de potasio en diferentes células de membranas excitables (Carbajal J., Pastrana E., Chávez M., 1999).
- 2) Las de cadena mediana compuestas por una gran variedad de polipéptidos (61 a 70 aminoácidos), cuya función es interferir con el flujo de iones de sodio a través de las membranas, esta familia es la más importante desde el punto de vista médico y se divide en toxinas tipo alfa que interfieren con el cierre del canal de sodio y las de tipo beta que impiden el fraccionamiento normal del mecanismo de apertura de canales de sodio (estos péptidos son los más abundantes y están presentes en el veneno de todas las especies de escorpiones).
- 3) Las de cadena larga compuestas por polipéptidos que actúan sobre la permeabilidad al calcio en las membranas excitables y del comportamiento intracelular (su estructura está menos estudiada pero se sabe que contienen más de 130 aminoácidos).

Finalmente, el veneno de los escorpiones también contiene péptidos muy pequeños, sales minerales, aminas y aminoácidos libres, lípidos, nucleótidos y algunas proteínas desconocidas, pero su efecto tóxico no está bien documentado (Monroy J., Monroy JM., 1960).

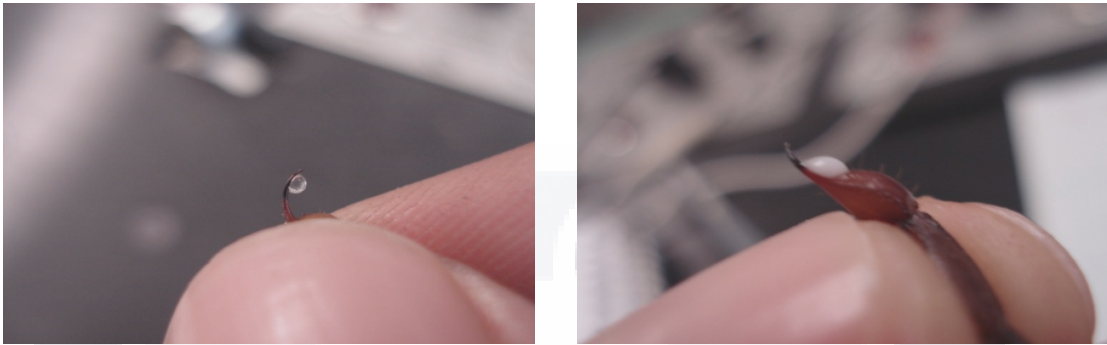


Fig. 4. Fotografías que muestran gotas de veneno del *C.infamatus* con distintas características.

3.2 Cuadro clínico del Alacranismo

El cuadro clínico por la picadura de alacrán puede presentarse a los pocos minutos de ocurrido el accidente y varía de acuerdo con la especie, género y tamaño del alacrán, la cantidad de veneno inoculado, el sitio de picadura, las características del paciente, su peso y edad, el tiempo de evolución y el tipo de tratamiento instaurado. Se puede encontrar un amplio espectro de manifestaciones que van desde el dolor local hasta el colapso vascular, falla cardíaca y muerte, de tal suerte que la toxicidad puede ser leve, moderado o grave (Granja V., Martínez R., Chico P., 1999).

En términos generales, el cuadro clínico puede ser dividido en síntomas y signos locales que presentan dolor en el sitio de picadura, dolor irradiado a todo el miembro afectado y sensación de entumecimiento en dicho miembro, y generales que no siempre se presentan y no se observa secuencia en su aparición, entre éstos se incluyen: hiperexcitabilidad, hipertermia, taquipnea, disnea, taquicardia o bradicardia, diaforesis, náuseas, vomito, distensión gástrica, diarrea, epifora, nistagmos, midriasis, fotofobia, sialorrea, secreción nasal, disfagia, disfonía, tos, broncorrea, edema pulmonar, hipertensión o hipotensión , choque, falla cardíaca, convulsiones, ataxia fasciculaciones y coma (Díaz, P.).

Grado	Signos y síntomas
Locales, leve	Dolor local, eritema, inquietud y edema.
Generales	Además de lo anterior: parestesias, sialorrea, edema laríngeo, tos nauseas, vomito, hormigueo nasal.
Moderado	Somnolencia, calambres, disnea, palidez, disartria.
Grave	Lo anterior mas convulsiones, fiebre, distensión abdominal, nistagmos, insuficiencia respiratoria, insuficiencia cardiaca.

Cuadro 7. Grado de intoxicación por piquete de alacrán y síntomas y signos presentados.

3.3 Fisiopatología

El veneno de alacrán provoca alteraciones funcionales de diversos órganos y tejidos, como consecuencia de la liberación súbita y masiva de acetilcolina y catecolaminas de las terminales nerviosas, debido al sobre-estimulación que efectúan las toxinas sobre los canales de sodio activados por voltaje. Esto explica la patogénesis de los daños neurológicos, cardiovasculares, hemodinámicos, con cambios electrocardiográficos, metabólicos y hormonales, además del edema pulmonar y pancreático. Se ha catalogado al envenenamiento por picadura de alacrán como un síndrome de déficit de energía y de capacidad para utilizar los sustratos metabólicos existentes por los órganos vitales, lo cual provoca una "falla multiorgánica" y en el peor de los casos la muerte (Jiménez J., 2004). No hay que descartar que por su naturaleza, las escorpaminas puedan tener efecto directo sobre los canales iónicos de todas las células excitables.

3.3.1 Cardiovascular

Algunos alacranes producen trastornos cardiovasculares. Existen 5 diferentes síndromes cardiovasculares que pueden dominar el cuadro clínico o combinarse en la intoxicación por picadura de escorpión:

1. Hipertensión
2. Edema pulmonar mas hipertensión

3. Shock o hipotensión
4. Edema Pulmonar con hipotensión
5. Disturbios del ritmo cardiaco:
 - a) Bradicardia o taquicardia sinusal
 - b) Extrasístole ventricular Despolarización prematura ventricular.
 - c) Taquicardia supraventricular
 - d) Taquicardia ventricular (Díaz, P.).

La insuficiencia cardíaca, edema pulmonar o síndrome de choque se observa en el 25% y la hipertensión en un 30% a 77% en pacientes que presentan síntomas cardiovasculares (Gueron M., Illion R., Sofer S., 2002). En un estudio realizado por Díaz Dueñas reporta una incidencia de síntomas cardiovasculares en un 40.7 % en niños de 4 a 14 años, reportando que no existe diferencia entre el grado de intoxicación y la aparición de alteraciones Electrocardiográficas (Díaz, P.). Otro estudio realizado por Gerardo Chowell señalo que en el 39.8% de los casos encontraron desórdenes cardiovasculares, 71% de los cuales fueron alteraciones rítmicas. Observó una asociación significativa entre la frecuencia de las alteraciones Electrocardiográficas (ECG) y la edad, sobre todo en niños de 8 y 9 años (Díaz P., et al, 2005) Las anomalías en el electrocardiogramas presentadas por envenenamiento por alacrán son: bradicardia en 24%, inversión de la onda T en 69% cambios en el segmento ST en 39%, alargamiento del QTc en 53% y otras alteraciones eléctricas en el 13% (Gueron M., Illian R., Sofer S., 2002).

El veneno del alacrán libera catecolaminas (Díaz P.) que estimulan a los receptores adrenérgicos cardiacos, usualmente hay hipertensión que es seguida de hipotensión, predominando la taquicardia, aunque la bradicardia también puede ser observada, de acuerdo al sistema preferentemente afectado por las toxinas (colinérgico u adrenérgico), pudiendo llegar a producir arritmias, falta cardiaca y de manera secundaria edema agudo pulmonar (Granja V., Martínez R., Chico P., 1999). Las catecolaminas tienen efecto sobre el miocardio a nivel celular producen acumulación de calcio y un incremento en los requerimientos de oxígeno con cambios en la contractibilidad del miocardio (Díaz P.).

Hay dos mecanismos por los cuales el veneno de alacrán puede producir aumento en la liberación de catecolaminas:

- 1) Por estimulación sobre las terminales nerviosas simpáticas con aumento de la secreción,
- 2) En la médula suprarrenal a través de la liberación de ACh por las fibras preganglionares y su interacción con los receptores nicotínicos de las células cromafines.

La hipertensión se produce por vasoconstricción periférica (que explica también la palidez) y por aumento en la fuerza contráctil del corazón a través de mediadores β_1 -adrenérgicos, también participa la liberación de renina por estimulación simpática β_1 de las células yuxtaglomerulares del riñón. Hecho que se demuestra con la elevación de los niveles séricos de renina y aldosterona en pacientes con síntomas sistémicos ocasionados por veneno de alacrán (Gueron M., Illian R., Sofer S., 1992). Además, las catecolaminas causan estrés severo en el miocardio, lo que resulta en isquemia subendocárdica que evoluciona a la necrosis e infarto del músculo cardiaco. También genera radicales libres y estimula la peroxidación lipídica en la membrana del miocardio. El estrés oxidativo en el miocardio deprime el transporte de Ca^{+2} del sarcolema y los resultados en el desarrollo de una sobrecarga intracelular de Ca^{+2} y disfunción ventricular (Punithavathi V., Stanely P., 2010).

Es importante destacar, que otra acción del veneno es probablemente modificar directamente la excitabilidad de la membrana de los miocitos, debido a que estas células tienen canales de Na^+ y Ca^{2+} dependientes de voltaje, los cuales son susceptibles de ser afectados por el veneno (Teixeira 2001). Además, la mayoría de los venenos producen una hipertensión pronunciada, tanto en animales de experimentación, como en las víctimas de intoxicación, sobretodo en niños. Es precisamente este efecto al que se considera el principal factor responsable de la falla cardiaca, así como del edema agudo de pulmón (Gueron 1992). La hipertensión secundaria a la picadura de alacrán se asocia a la liberación masiva de catecolaminas; pero las catecolaminas tienen un efecto de aproximadamente 3 minutos provocando fallas cardiacas. En cambio, el veneno provoca una hipertensión de larga duración, la cual es más complicada y no se explica simplemente por la liberación masiva de las catecolaminas de las terminales nerviosas sistémicas y de la médula adrenal (Ismail 1995).

A nivel histológico se observa dilatación cardiaca, palidez del musculo cardiaco, edema intersticial con infiltrado inflamatorio de neutrofilos y eosinofilos. Signos de leucodiapedesis, con miocitolisis (necrosis) focal y degeneración vacuolar de las fibras cardiacas, músculos papilares y áreas subendocardiacas. Los hallazgos descritos en los casos fatales son similares a los observados en pacientes muertos por feocromocitoma, así como en quienes se induce experimentalmente a través de la inyección de veneno o de altas dosis de catecolaminas, produciendo un efecto inotrópico positivo, incrementando la demanda de oxígeno, con hipoxia relativa y posible necrosis a través de la interferencia química directa, factor que podría justificar los cambios enzimáticos y electrocardiográficos (Granja V., Martínez R., Chico P., 1999). En nuestro laboratorio estamos encontrando evidencia de efecto directo en músculo cardiaco, en un modelo experimental con rata Wistar, que coadyuva a los efectos cardiovasculares inducidos por las catecolaminas.

3.4 Tratamiento contra el Alacranismo

Cuando un paciente llega al hospital por picadura de alacrán es necesario evaluar el estado general, tomar oximetría y si la saturación es menor al 92%, administrar oxígeno. Se debe practicar un electrocardiograma, poniendo atención en el segmento QT. Se miden electrólitos y se practican examen general de orina, biometría hemática y química sanguínea. Se debe vigilar estrechamente al paciente y mantenerlo hospitalizado durante 2 a 9 horas aproximadamente. No debe usarse gluconato de calcio porque agrava el cuadro. La hidrocortisona y los antihistamínicos se utilizan solamente como preventivos de un choque alérgico por la administración del antisuero (Tay L., Castillo L., Ruiz., Calderón L., 2004).

El tratamiento se selecciona dependiendo de la presencia de síntomas locales o sistémicos. Cuando se presentan síntomas locales se administran analgésicos y se hacen observaciones periódicas durante una hora. Cuando se presentan síntomas sistémicos hay que aplicar el antiveneno y mantener la observación y las medidas de sostén hasta que ceda el cuadro clínico (Aragón A., et al., 2003). En los casos leves y moderados se recomienda el uso de nuroplejicos, corticoides, calcio, aminofilina, atropina y tiamina, se aconseja como manejo complementario la aspiración de secreciones y oxigenoterapia. Si la picadura es reciente o en alguna extremidad es aconsejable ligar la aparte superior, realizar una incisión o succión, aplicar

hielo local para controlar el dolor, atropina, fenobarbital e hidrocortisona (Granja V., Martínez R., Chico P., 1999).

3.4.1 Antiveneno

Desde los inicios de la terapia con sueros antiveneno, en el siglo XIX hasta la década de los años 30, los antivenenos eran sueros crudos que contenían una gran cantidad de sustancias antigénicas, responsables de gran cantidad de reacciones adversas que en ocasiones llegaban a causar la muerte del paciente por choque alérgico. Estos sueros eran llamados de primera generación. Posteriormente se lograron purificar las inmunoglobulinas, dando origen a los sueros de segunda generación que originaban menos reacciones adversas, conservándose altas concentraciones de IgG (Tay L., Castillo L., Ruiz., Calderón L., 2004).

Actualmente existen los antivenenos de tercera generación o Faboterápicos que utilizan solamente las fracciones F (ab')₂ que reconocen los determinantes antigénicos, por lo que poseen una alta especificidad neutralizante y no provocan las reacciones adversas de los sueros de primera generación, que contienen gran cantidad de proteínas heterólogas y compuestos pirogénicos (Granja V., Martínez R., Chico P., 1999).

3.5 Antioxidantes

Se conoce como estrés oxidativo a los efectos nocivos debidos al desbalance entre la acción de agentes oxidantes sobre las células y la respuesta antioxidante de éstas, con una preponderancia a favor de los primeros (Benítez D., 2006). Los agentes oxidantes pueden ser exógenos (fármacos o venenos) o endógenos (como las especies reactivas del oxígeno o ROS por sus siglas en inglés). Entre los venenos que pueden ser agentes oxidantes se conoce al veneno del alacrán que desencadena una cascada de catecolaminas y causa un estrés severo en el miocardio, lo que resulta en la necrosis e infarto del músculo cardiaco. También genera radicales libres que estimulan la peroxidación lipídica a la membrana del miocardio. El estrés oxidativo en el miocardio deprime el transporte de Ca⁺² del sarcolema y los resultados en el desarrollo de una sobrecarga intracelular de Ca⁺² y disfunción ventricular (Gueron M., Illian R., Sofer S., 1992).

Los antioxidantes han sido definidos como compuestos que protegen a los sistemas biológicos contra los efectos potencialmente dañinos de procesos o reacciones que pueden causar excesivas oxidaciones. Los antioxidantes pueden ser clasificados en los siguientes grupos:

- 1) Antioxidantes primarios: previenen la formación de nuevos radicales libres convirtiendo los radicales libres en moléculas menos perjudiciales, o evitando la formación de nuevos radicales libres a partir de otras moléculas, por ejemplo la superóxido dismutasa (SOD) que convierte O_2^- en peróxido de hidrogeno; la glutatión (GPX) que convierte el peróxido de hidrogeno y los peróxidos lipídicos en moléculas inofensivas antes de que formen radicales libres. Las proteínas de unión a metales (ejemplo: ferretina y ceruloplasmina) que limitan la disponibilidad de Fe^{2+} necesario para formar el radical hidroxilo.
- 2) Antioxidantes secundarios: capturan los radicales, evitando la reacción en cadena. Vitamina e, vitamina C, betacarotenos, flavonoides.
- 3) Antioxidantes terciarios: reparan las biomoléculas dañadas por los radicales libres. Incluyen enzimas reparadoras de ADN y la merionina sulfóxido reductasa.

Desde el punto de vista nutricional los antioxidantes secundarios son los que tienen mayor importancia. Dentro de este grupo se encuentran algunas vitaminas, betacarotenos y flavonoides, no pueden ser sintetizados dentro del cuerpo humano sino que deben de ser adquiridos a través de la dieta.

Los antioxidantes (glutatión reducido, vitaminas C y E, quercetina, etc.) son útiles para contrarrestar los daños causados por las ROS, las cuales también están implicadas en procesos patológicos relacionados con la carcinogénesis, la aterosclerosis y el envejecimiento. Además, en el mundo desarrollado la enfermedad cardiovascular es un problema importante de salud a nivel poblacional, causando el mayor número de muertes prematuras, por lo que su prevención es un objetivo del máximo interés en Salud Pública. Varios estudios muestran que la quercetina, la vitamina E y el Ginkgo biloba son capaces de actuar como cardioprotectores (Gueron M., Illian R., Sofer S., 1992 y Vázquez C., et al, 1998).

3.5.1 Quercetina

La quercetina (Fig. 5) es un flavonol abundante en la dieta humana, que tiene alto poder antioxidante in vitro. En los alimentos la quercetina se presenta habitualmente en forma conjugada, como glucósido de quercetina. Algunos autores indican que estos glucósidos son directamente transportados hacia el interior de los enterocitos por el transportador I de glucosa dependiente de Na^+ (Hollman et al, 1995), mientras que otros señalan que es necesaria una desglicosilación previa intestinal para que estos metabolitos sean absorbidos (Nemeth et al, 2003). Cuando los metabolitos de quercetina se encuentran en el torrente sanguíneo, éstos pueden mantenerse en circulación más de 10 horas como consecuencia del reciclaje enterohepático, lo que representa un tiempo de permanencia en circulación muy superior al mostrado por otros flavonoides, como sucede con antocianidinas y catequinas (Arts et al, 2004).

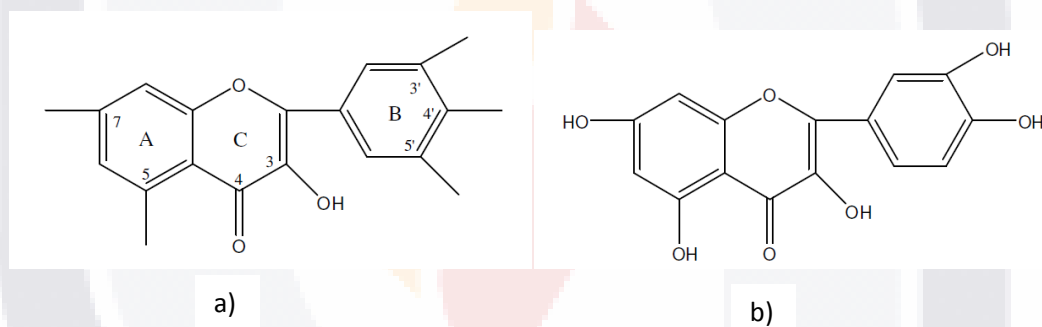


Fig. 5. Comparación de la estructura de los a) flavonoides y b) la quercetina

Las concentraciones de quercetina en el plasma humano tras el consumo de alimentos ricos en este tipo de flavonol varían desde 0,7 a 7,6 μM . La quercetina circula en el plasma sanguíneo humano en forma sulfatada (35%), asociada a glucuronato (46%) y en forma glucuronometilada (19%), mostrando en la rata un patrón de conjugación bastante diferente (Van der Woude et al, 2006).

La gran capacidad de la quercetina (3,3',4', 5,7-pentahidroxiflavona) para inhibir el daño oxidativo inducido tanto por metales como no metales, se adscribe parcialmente a la presencia de su grupo 3-OH libre, el cual aumenta la estabilidad del radical flavonoide. Su glucósido, la rutina,

quercetina unida a través del 3-OH por un enlace O-glicosídico al C1 del disacárido glucosaramina (quercetina-3-rutinósido), presenta un poder antioxidante menor. La capacidad antioxidante total de la quercetina medida como actividad antioxidante equivalente en Trolox (TEAC) es de 4,7 mM, lo que representa un valor 5 veces superior a los cuantificados para las vitaminas E y C. Diversos polifenoles, entre los que se incluye la quercetina y sus derivados glicosilados, son capaces de inhibir in vitro la peroxidación lipídica en diversos sistemas biológicos: lipoproteínas (Nigdikar et al, 1998), liposomas, hepatocitos en cultivos celulares y membranas de eritrocitos (Tedesco et al, 2000; Araya et al, 2001).

3.5.1.1 Efecto antioxidante

La quercetina retira oxígeno reactivo especialmente en forma de aniones superóxidos, radicales hidroxilo, peróxidos lipídicos o hidroperóxidos. De esta manera bloquea el accionar deletéreo de estas sustancias sobre las células. Los efectos citoprotectores de la quercetina son, por ejemplo, bien patentes en fibroblastos de la piel humana, queratinocitos, células endoteliales y ganglios sensoriales cultivados en presencia de sulfoxina-butionina, un inhibidor irreversible de la glutatión sintetasa. Asimismo, la quercetina ha demostrado inhibir in vitro la oxidación de la lipoproteína de baja densidad (LDL) por los macrófagos y reducir la citotoxicidad de la LDL oxidada (Hertog M., 1993; MERCK S.A., 2000;).

La propiedad antioxidante antes descrita reduce el riesgo de muerte por afecciones y daños cardíacos. En ese sentido, la quercetina ha demostrado que disminuye la incidencia de infarto de miocardio y de derrames cerebrales en personas de la tercera edad. Las poblaciones que consumen productos ricos en este flavonoide estadísticamente presentan menores riesgos de afecciones cardiovasculares (Jiménez J., 2004). En ratas se pudo observar que la quercetina mejora la función contráctil del ventrículo izquierdo y reduce la incidencia de trastornos de la conducción cardíaca. El proceso se limita al área dañada por isquemia, protegiendo la ultraestructura de las arterias coronarias, mejorando la circulación coronaria y previniendo la formación de trombos intravasculares. Por otra parte, también demostró efectos vasodilatadores en aorta aislada de ratas, efectos antitrombóticos (por unión selectiva en la pared plaquetaria) y disminución de las lesiones de reperfusión del miocardio. Debido a la inhibición de la peroxidación lipídica, la

quercetina protege de la destrucción local del endotelio por prostaciclina y el óxido nítrico (NO). Las prostaciclina y el NO inhiben la agregación plaquetaria y tienen acción vasodilatadora. En tanto, en cerdos evidenció una moderada hipotensión arterial, con incremento del índice respiratorio y una caída en el índice cardíaco (Hertog M., 1993).

3.5.1.2 Seguridad de la quercetina

La quercetina es conocida como el mayor mutagénico de los flavonoides. Esta propiedad se demostró en la prueba de Ames, en cultivo celular y en el ADN humano. En orina y heces de ratas a las cuales se les administro una dosis determinada intraperitoneal de quercetina, se encontró actividad mutagénica, lo cual puede ser una propiedad significativa in vivo (17)

Sin embargo, no significa que en todos los casos sea mutagénico. La mayoría de los estudios encontraron que la quercetina no tiene ninguna actividad carcinogénica in vivo. Un estudio anterior encontró que ratas que tienen una dieta que contiene alrededor de 400 mg/kg más de 410 días no Incremento de patología macroscópica. El peso corporal total, así como el peso de órganos resultaron ser similares a los animales de control.

3.5.2 Vitamina E

La vitamina E (Fig. 6) es el nombre colectivo para un conjunto de ocho tocoferoles y tocotrienoles estructuralmente relacionados que actúan como vitaminas antioxidantes liposolubles (20) La vitamina E es el principal protector cutáneo antioxidante no enzimático liposoluble natural contra los efectos del estrés oxidativo. (Pita G., 1997) De éstos, el α -tocoferol ha sido muy estudiado ya que tiene la biodisponibilidad mayor. La forma del α -tocoferol es la más importante de los antioxidantes liposolubles y protege las membranas de la célula contra la oxidación reaccionando con los radicales lipídicos producidos en la reacción en cadena de peroxidación de lípidos. Esto elimina las formas intermedias de radicales libres y evita que continúe la propagación de la reacción oxidativa en cadena. Los radicales oxidados del α -tocoferoxil producidos en este proceso se pueden reciclar de nuevo a la forma reducida activa a través de la reducción por el ascorbato, el retinol o el ubiquinol.

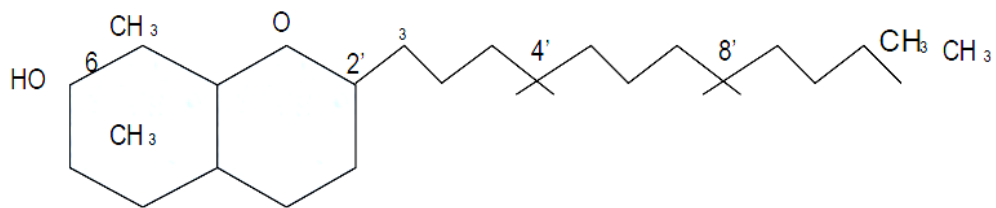


Fig. 6. Estructura química de la vitamina E.

La vitamina E de la dieta esta compuesta primariamente por α y γ - tocoferol, del cual 20- 25% es normalmente absorbido. A causa de su naturaleza hidrofóbica, la vitamina E es absorbida en forma similar a las grasas de la dieta. Se absorbe en las células de la mucosa intestinal por un proceso de difusión pasiva, no saturable, no saturable y no mediado por transportadores, previa acción de ácidos biliares e hidrólisis por esterases pancreáticas e intestinales (Rocha H., 2001). , son metabolizados y eliminados a través de la bilis y de la orina (Ble, C., 2006).

En el hepatocito el tocoferol que entra en forma de quilomicrones se une a la proteína transportadora de tocoferol citosolica, y entonces es transportada al retículo endoplasmico de Golgi para incorporarlas a las lipoproteínas que pasan a la circulación general.

La Vitamina E se encuentra prácticamente en forma exclusiva en tejido graso, membranas celulares y lipoproteínas circulantes. Su almacenamiento en tejido adiposo y musculo. Dentro de las células, se han encontrado altos niveles en el aparato de Golgi, lisosomas, retículo endoplasmico y mitocondria mientras que los peroxisomas y el citosol tuvieron los valores más bajos de tocoferol.

Se sabe que el exceso de α - tocoferol y otros tocoferoles son metabolizados en hígado y excretados por esta vía del 70 al 80% o bien por excreción urinaria. Los metabolitos urinarios son glucoronidos de ácido tocoferónico y sus γ lactonas (Brigelius-flohe, R., Traber, Maret., 2001)

3.5.2.1 Propiedades antioxidantes de la vitamina E

El mecanismo de acción de la vitamina E como agente antioxidante, es químicamente mediado por el grupo fenólico OH del anillo cromanol. El α -tocoferol interrumpe la reacción en cadena de la formación de radicales libres (Cadenas E., 1987).

La vitamina funciona in vivo como un antioxidante que protege a los lípidos tisulares del ataque por los radicales libres. Los radicales peróxidos (LOO \cdot), pueden generarse, por ejemplo, a partir de los ácidos grasos poliinsaturados de los fosfolípidos de las membranas o en las lipoproteínas después de la pérdida de hidrógenos (proceso llamado iniciación) y la adición de una molécula de oxígeno. Se han informado en la literatura constantes de velocidad para la reacción de los tocoferoles con varios radicales peróxido que van desde 1×10^4 hasta 1×10^9 mol L $^{-1}$ s $^{-1}$ (Niki E. 1987).

Esta alta reactividad es de gran importancia en las membranas, porque los tocoferoles al reaccionar con los radicales peróxidos lipídicos generan hidroperóxidos lipídicos relativamente estables. Los radicales tocoferilos interrumpen la reacción radicalica en cadena, por lo que protegen de la peroxidación lipídica. De hecho, en plasma y en eritrocitos, la vitamina E es el principal antioxidante liposoluble que protege los lípidos contra el daño oxidativo. El contenido de vitamina E determina la susceptibilidad al daño por agentes oxidantes tales como son los radicales hidroxilo, alcoxilo, peroxilo, el oxígeno singulete y quizás a varios complejos de metales unidos al oxígeno en los microsomas, hepatocitos u órganos enteros (Brigelius-flohe, Regina, Traber, Maret, 2001).

La actividad eliminadora, secuestradora de oxígeno singulete, también se ha estudiado para los homólogos del tocoferol y se encontró que ocurre con constantes de velocidad de reacción de aproximadamente 1×10^7 mol L $^{-1}$ s $^{-1}$, decreciendo en el orden α - tocoferol > β - tocoferol > γ -tocoferol > δ -tocoferol. Esta actividad dependía de un grupo hidroxilo libre en la posición 6 del anillo cromano, porque un grupo éster o éter en esa posición eliminaba la actividad.

Las funciones de las otras formas de la vitamina E están menos estudiadas, aunque el γ -tocoferol es un nucleófilo que puede reaccionar con mutágenos electrofílicos y los tocotrienoles puede que tengan un rol especializado en la neuroprotección (Brigelius-Flohé R, 1999). Punithavathi y Stanely (2010) comprobaron que la vitamina E junto con la quercetina son capaces de ejercer un efecto cardioprotector en el infarto al miocardio inducido por Isoproterenol en las ratas.

3.5.2.2 Toxicidad de la vitamina E

Dentro del peligro potencial de consumo de altas dosis de vitamina E se pueden mencionar que esta sustancia puede desplazar a otros antioxidantes solubles en las grasas, rompiendo el balance natural del sistema antioxidante e incrementando la vulnerabilidad del daño oxidativo. También puede inhibir las enzimas citosólicas glutatión S-transferasas las cuales ayudan a detoxificar drogas y toxinas endógenas. De hecho un estudio sobre α -tocoferol y β -caroteno demostró un significativo incremento en el riesgo de shock hemorrágico entre los participantes tratados con vitamina E. Datos preliminares sugieren que la vitamina E también podrían afectar la conversión de β -caroteno en vitamina A y la distribución de esta en los tejidos animales (Miller Mg, 1993).

La vitamina E tiene propiedades anticoagulantes posiblemente interfiriendo con los mecanismos mediados por la vitamina K. En estudios recientes realizados in vitro se ha demostrado que la vitamina E potencia los efectos antiplaquetarios del ácido acetilsalicílico por lo que se debería tener cuidado cuando se consumen estas dos sustancias. Otro estudio ha demostrado una asociación entre el consumo de dosis elevadas de vitamina E (≥ 400 UI/d) durante el primer trimestre del embarazo y el bajo peso del neonato. (Marfella R., et al, 2001).

4. JUSTIFICACIÓN

El Alacranismo es un problema de salud a nivel nacional. En el estado de Aguascalientes la especie de alacrán endémica es la segunda en toxicidad dentro de las especies tóxicas del género *Centruroides* presentes en México. Actualmente el antiveneno preparado de suero de caballo inmunizado es el tratamiento utilizado para contrarrestar el envenenamiento por el piquete de alacrán, pero el uso de estos antivenenos puede generar efectos secundarios. De los aparatos y sistemas afectados por el veneno de alacrán, el cardiovascular es el más ampliamente estudiado ya que el daño en este sistema es la principal causa de muerte.

Actualmente se sabe que el uso de antioxidantes presenta resultados positivos en las complicaciones vasculares. En función de ello, se puede plantear la siguiente pregunta: ¿el uso de antioxidantes como la vitamina E y la quercetina puede prevenir, mitigar y/o curar los signos y síntomas cardiovasculares causados por el piquete de *Centruroides infamatus*?

5. HIPÓTESIS

La vitamina E y la quercetina previenen y coadyuvan a mejorar los signos y síntomas cardiovasculares generados por la intoxicación producida por la picadura del alacrán *Centruroides infamatus*.

6. OBJETIVOS

a) General

Estudiar los efectos preventivos y curativos de antioxidantes durante la intoxicación producida por el veneno de *Centruroides infamatus*.

b) Particulares

- 1) Caracterizar los efectos nocivos producidos en el aparato cardiovascular por el veneno del alacrán *C infamatus*, valorados por registros electrocardiográficos y cambios en la presión arterial.
- 2) Durante la intoxicación por el veneno de *C infamatus*, analizar los efectos de la quercetina y la vitamina E sobre las variables fisiológicas descritas en el apartado anterior.

7. MATERIALES Y METODOS

7.1 Extracción de veneno

Preparación del veneno de alacrán de *Centruroides infamatus*. Los alacranes se colectarán en la región del municipio de Calvillo, Ags, los cuales fueron mantenidos en el laboratorio de fisiología y farmacología edificio 23 de la Universidad Autónoma de Aguascalientes en cajas plásticas, con tierra como sustrato, un recipiente pequeño con agua y un trozo de madera que les permitiera ocultarse. Se alimentaron cada quince días con larvas de coleópteros (tenebrios),

grillos y cucarachas juveniles (*Periplaneta americana*). El veneno se recolectará en tubos de borosilicato por medio de un pulso eléctrico de 75 V, frecuencia de 110 hz, por una duración de 100 ms aplicado directamente al telson de los alacranes.

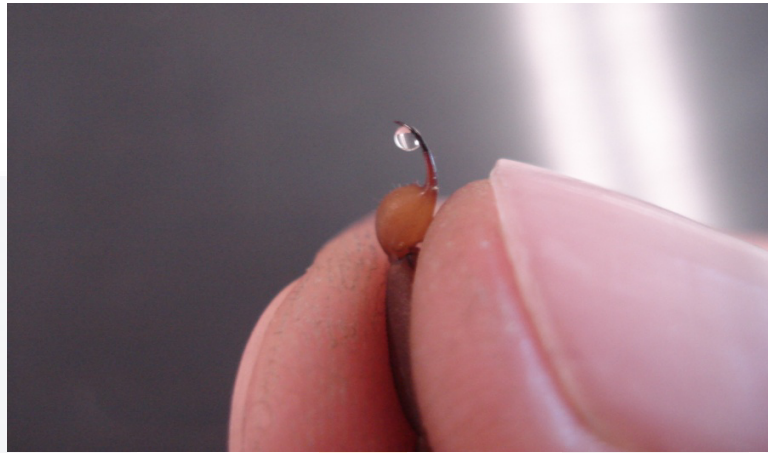


Fig. 7. Extracción del veneno

7.2 Animales de experimentación

Se usaron 64 ratas machos de la cepa Wistar con peso de 250-300 g. Todos los animales se mantendrán bajo condiciones de temperatura controlada ($22 \pm 2^{\circ}\text{C}$), ciclos de 12 horas de luz por 12 horas de oscuridad y con acceso libre al agua y alimento. Las ratas serán divididas al azar en ocho grupos (N=8/grupo).

Los controles se realizaron con 50 ratas

7.3 Preparación de antioxidantes

El α -tocoferol se disolvió en etanol para preparar una solución madre para obtener una concentración de 119 mg/mL. Después se disuelve con aceite comestible y aplica por vía oral a una concentración de 2 mg/kg/día.

Para la preparación de quercetina se peso 0.0625 g, se disolvió en aceite comestible con 0% de antioxidantes para obtener una concentración de 6.25 mg/Kg/día, la cual se administrara por vía oral.

7.4 Dosis de veneno de alacrán

Para obtener una concentración de veneno pequeña que presentara todos los efectos cardiológicos se realizaron experimentos con 2, 1, 0.5, 0.25, 0.2 y 0.1 μ L. como dosis única. (La dosis letal 50 es de 0.15 mg). El veneno se aplico en el abdomen por vía subcutánea.



Fig. 8. Aplicación del veneno por vía su dérmica.

7.5 Tratamientos

Grupo	Tratamiento
1	Control no inoculadas (negativas)
2	Ratas control inoculadas (positivas). Tratamiento veneno de alacrán (2, 1, 0.5, 0.25, 0.2 y 0.1 μ L de veneno de alacrán).
3	Tratamiento preventivo quercetina (6.25 mg/Kg/día., vía oral durante 14 días). Al día siguiente, intoxicación con veneno de alacrán.
4	Tratamiento preventivo α -tocoferol (2 mg/kg/día, vía oral, durante 14 días). Al día siguiente, intoxicación con veneno de alacrán.
5	Tratamiento preventivo quercetina + α -tocoferol (dosis anteriores durante 14 días). Al

día siguiente, intoxicación con veneno de alacrán.

- 6 Tratamiento curativo quercetina. Intoxicación con veneno de alacrán y 5 minutos después quercetina (6.25 mg/Kg/día., vía oral).
- 7 Tratamiento curativo α -tocoferol. Intoxicación con veneno de alacrán y 5 minutos después α -tocoferol (2 mg/kg/día, vía oral).
- 8 Tratamiento curativo quercetina + α -tocoferol. Intoxicación con veneno de alacrán y 5 minutos después dosis anteriores de quercetina + α -tocoferol.

7.6 Medición de la presión arterial y electrocardiograma.

Las ratas se anestesiaron con pentobarbital sódico (45 mg/kg, ip) y a las que se les insertaron agujas subdérmicamente para el registro del electrocardiograma en derivación II. En seguida se introdujo un catéter en la arteria femoral para el registro directo de la presión arterial, esta se registró a través de un transductor de presión modelo RP 1500 de Narco Bio-Systems, que se conectó a un Preamplificador operacional Grass modelo 7P1B acoplado a un puerto de conversión analógico/ digital, Axon Digidata 1200 cuya señal se llevó a una computadora con un Software denominado AXOTAPE con el cual se realizaron los registros de presión y del Electrocardiograma para su análisis. Para obtener el Electrocardiograma, se colocaron electrodos de agujas subdérmicas en el miembro superior derecho e izquierdo respectivamente, y otra en el miembro inferior derecho como tierra, las agujas están soldadas a un cable conductor que se conecta a un Preamplificador operacional Grass modelo 7P1F cuya señal se lleva también a la unidad Digidata 1200 para su conversión analógica/digital y el procesamiento de la señal y los datos a través del software Axotape.

Una vez que se estabiliza la señal del electrocardiograma y presión arterial se procedió a realizar el registro Control o basal de cada animal experimental por 10 minutos, después de los cuales se procede a la administración de 2 μ L de veneno crudo, vía subcutánea a cada animal.

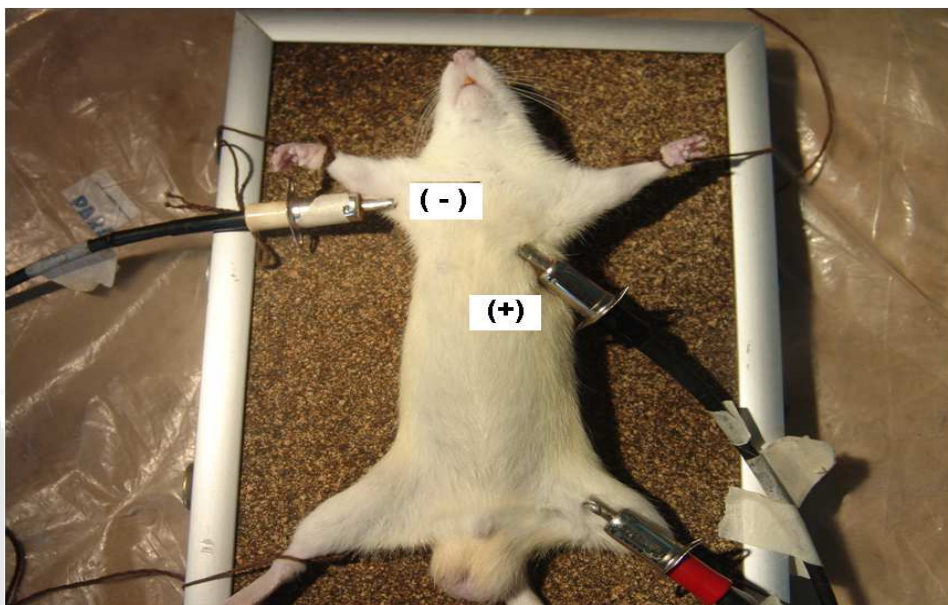


Fig. 9. Colocación de los electrodos para el Registro de ECG en derivación DII en la rata Wistar.

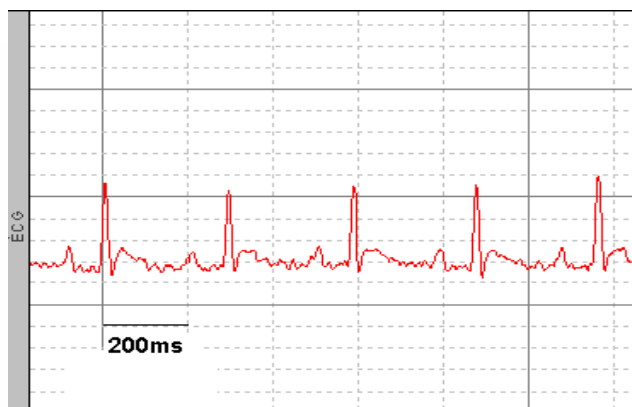
7.7 Análisis estadístico.

Los resultados fueron sometidos a un análisis de variancia (ANOVA) y los grupos de ensayo fueron comparados con los grupos control por la prueba “t” de Student. La probabilidad de 0.05 fue considerada como significativa, y menos a 0.01 muy significativa.

8. RESULTADOS

8.1 Caracterización de los cambios electrocardiográficos presentados por el enseñamiento por *Centruroides infamatus*

- Control no inoculado (negativas)



Las ratas control presentan una frecuencia cardiaca de 240 latidos por minuto y una presión arterial media de 97 mmHg.

Fig. 10. Electrocardiograma control en rata Wistar

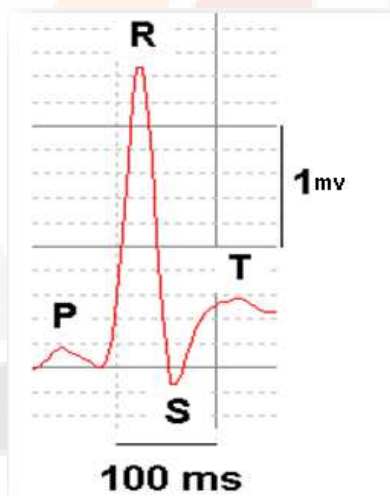


Fig. 11. Registro característico en derivación DII de la rata Wistar.

Ratas inoculada (positiva)

- 2 μ L de veneno *C infamatus*

-5 minutos

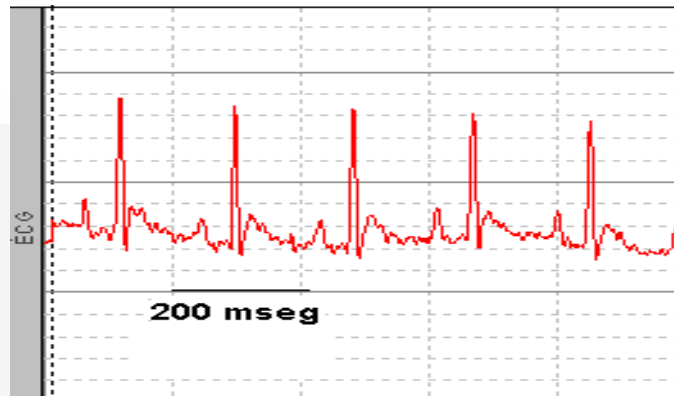


Fig. 12. Cambios fisiológicos a los 5 minutos después de inyectar 2.0 μ L de veneno de *Centruroides infamatus*

Se observa un electrocardiograma característico de una rata Wistar con complejos Rs normales. Presenta un incremento pequeño de presión arterial media (valor 126 mmHg) y un incremento en la frecuencia cardiaca de 360 latidos por minuto.

- 10 minutos

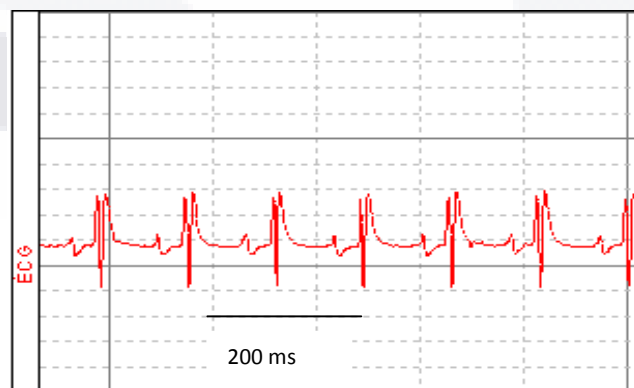


Fig. 13. Registro del ECG a los 10 minutos de inoculación de 2 μ l de veneno de *C infamatus* FC.de 420 latidos por minuto.



Fig. 14. Trazo a los 10 minutos de inoculación en el que se aprecia Q profunda, Tiempo prolongado de la Deflexión Intrínsecoide (TDI) de 65 mseg (normal 25 mseg promedio) con bloqueo incompleto de rama izquierda

Se observa una taquicardia con frecuencia cardiaca aumentada a 420 latidos/minuto y un aumento de la presión arterial a 140 mmHg. Cambios significativos en el ECG con desniveles positivos del punto J e inversiones de la onda T e incremento en el tiempo de la deflexión intrínsecoide con bloqueo incompleto de rama izquierda.

- 12 minutos de haber inoculado 2.0 μ l del veneno



Fig. 15. Registro del ECG a los 12 minutos de inoculación de 2 μ l de veneno de *C. infamatus* aparece bradicardia y bloqueo AV de 2º Grado tipo Mobitz II

Se presenta una frecuencia cardiaca de 240 latidos/minutos variaciones de presión arterial entre 80 y 50 mmHg. Se puede observa la presencia de bloqueos de 2° Grado tipo Mobitz II.

- 25 minutos

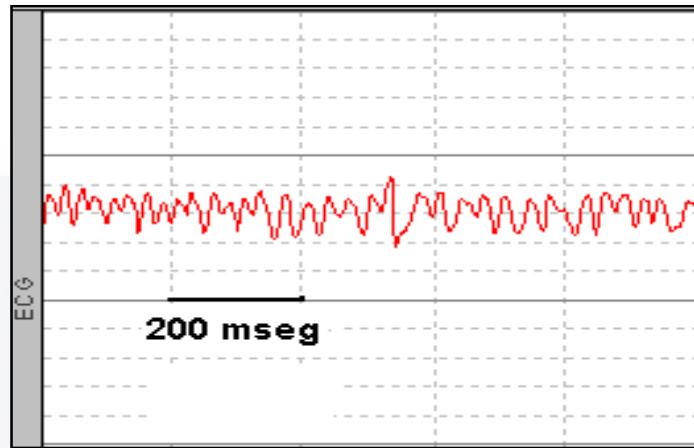


Fig. 16. Fibrilación ventricular a los 25 minutos de inoculación de 2µl de veneno de *C infamatus*

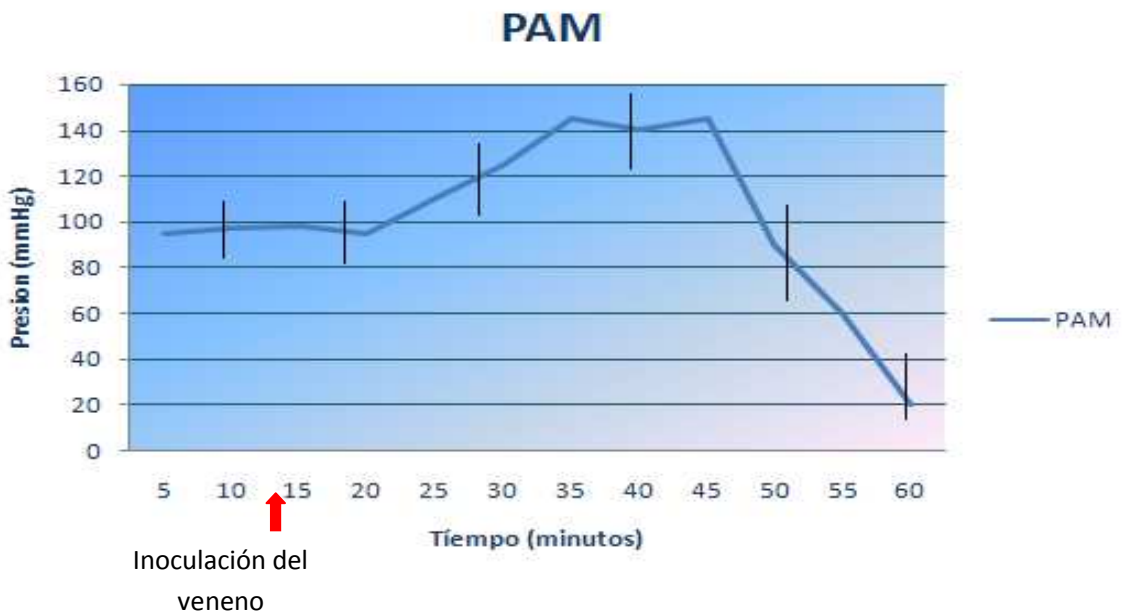


Fig. 17. Modificaciones en la Presión Arterial Media con un valor promedio normal de 97 mmHg, de la rata Wistar n=50 indicando la DE de la curva con aplicación de 2µl de veneno puro de *C infamatus* a los 20 minutos del control.

Con 2µl de veneno de *C infamatus*, todas las ratas fallecieron en 30 minutos promedio, por lo que se continúa en la siguiente fase utilizando las concentraciones subsiguientes.

8.2 Determinación de la dosis de veneno a utilizar

- **0.10 µL veneno**

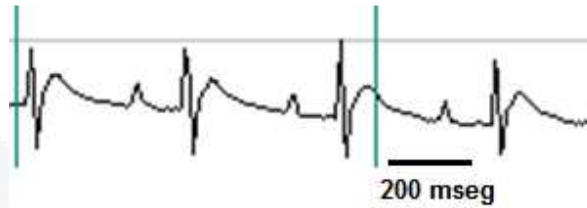


Fig. 18. Registro de electrocardiograma con inoculación de 0.10µL de veneno.

Se presenta una frecuencia cardiaca de 300 latidos por minuto y una PAM de 110 mmHg

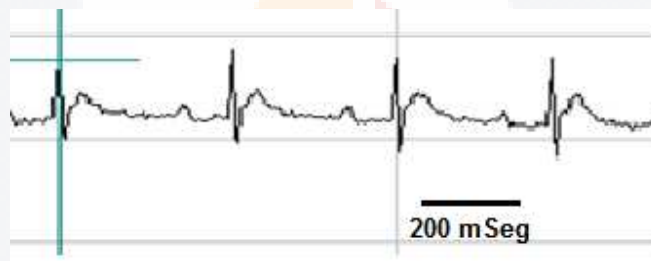


Fig. 19. Registro de electrocardiograma a los 45 minutos de aplicación de 0.10µL de veneno.

Se puede observar una disminución de la onda R y S, un aumento positivo de la onda ST, además de que se observa un aumento en el tiempo entre la onda P y la onda Q.

- **0.20 µL de veneno *C infamatus***



Fig. 20. Registro electrocardiográfico de rata Wistar inoculada con 0.20 µL de veneno.

Se observa un electrocardiograma normal con una frecuencia cardiaca de 240 latidos por minuto y una PAM de 118 mmHg.

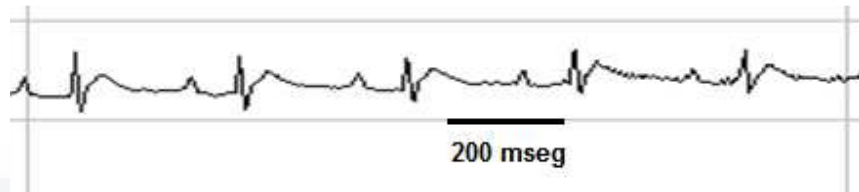


Fig. 21. Electrocardiograma donde se muestra el inicio de los cambios en la inoculación de 0.20 μ L de veneno a los 40 minutos.

Se puede observar una R de menor tamaño a la presentada en el control. Se presenta una frecuencia cardiaca de 300 latidos por minuto y una PAM de 148 mmHg.

- 0.25 μ L de veneno de *Centruroides infamatus*

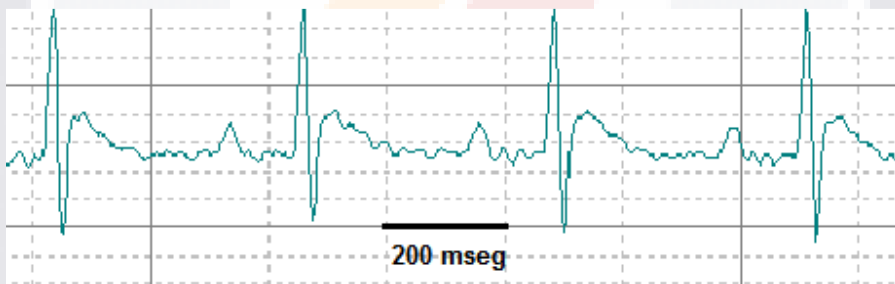


Fig. 22. Registro de electrocardiograma al momento de la inoculación de 0.25 μ L de veneno de alacrán.

Se observa un electrocardiograma característico de una rata wistar con complejos qR normales. Presenta una PAM de 126 mmHg y una frecuencia cardiaca de 360 latidos por minuto.

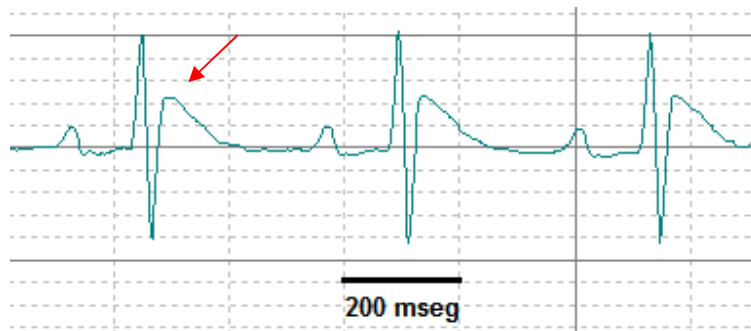


Fig. 23. Registro de electrocardiograma a los 20 minutos de inoculación de veneno

Después de 20 minutos de inoculación de 0.25 μ L de veneno donde se observa un aumento de la onda T en comparación con el control. Se presenta una PAM de 140 mmHg.

- 0.5 μ L de veneno *C infamatus*

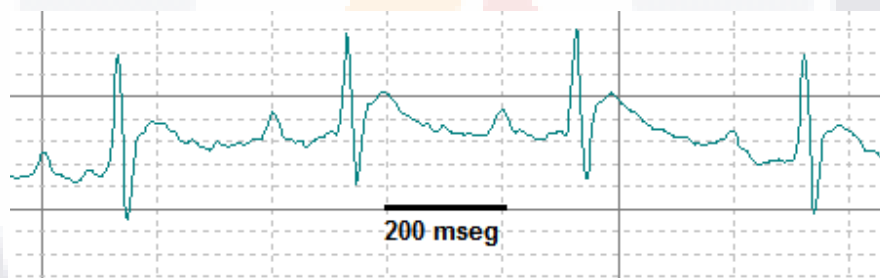


Fig. 24. Electrocardiograma con características normales al momento de inocular 0.5 μ L de veneno de *C infamatus*.

Al momento de aplicar 0.5 μ L de veneno se observa un electrocardiograma normal con una frecuencia cardiaca de 300 latidos por minuto y una PAM de 100 mmHg.

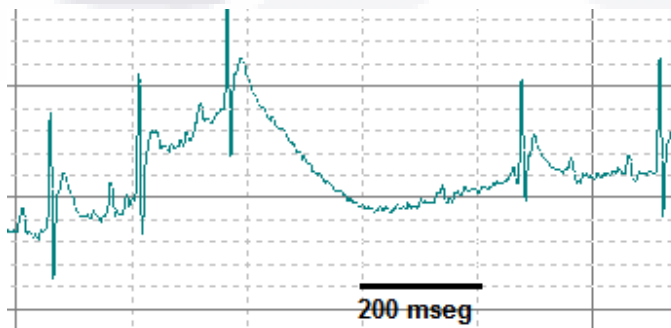


Fig. 25. Se observa el inicio de los cambios del electrocardiograma a los 17 minutos al aplicar 0.5 μL de veneno. Se observa un bloqueo de 2° grado.

Se puede apreciar que al ir disminuyendo la concentración de veneno el tiempo de inicio de cambios electrocardiográficos se prolonga.

- **1 μL de veneno *C. infamatus***



Fig. 26. Registro de electrocardiograma al momento de la aplicación de 1 μL de veneno de *C. infamatus*.

Se observa un electrocardiograma normal con una frecuencia cardiaca de 360 latidos por minuto y una PAM de 123 mmHg.



Fig. 17. Registro del electrocardiograma a los 13 minutos de la inoculación de veneno donde se observa un retraso de activación nodal.

Al inocular 1 μL de veneno se puede observar que el inicio de los efectos es a partir de los 13 minutos donde se observa un retraso de la activación nodal.

8.3 Tratamiento con antioxidantes

Inicialmente se aplicaron los antioxidantes por vía intraperitoneal, durante 15 días, se pudo observar rigidez abdominal difusa, dificultad respiratoria y comenzaron a morir, se les realizó una biopsia. Las ratas del grupo 4 y 8 presentaron peritonitis fibrinosa, presentan exudación, los órganos presentan una capa fibrinosa de color blanco-amarillento (fig. 6 y 7), se puede observar la presencia de tejido necrosado y hemorragia (fig. 7), y la presencia se olores característicos de la necrosis.



Fig. 27. Rata con peritonitis, presencia de hemorragias y necrosis (grupo 4)



Fig. 28. Rata con peritonitis fibrinosa, bridas fibroticas con presentación de tejido gastrointestinal necrosado, presencia de olores de tejido necrótico (grupo 8).

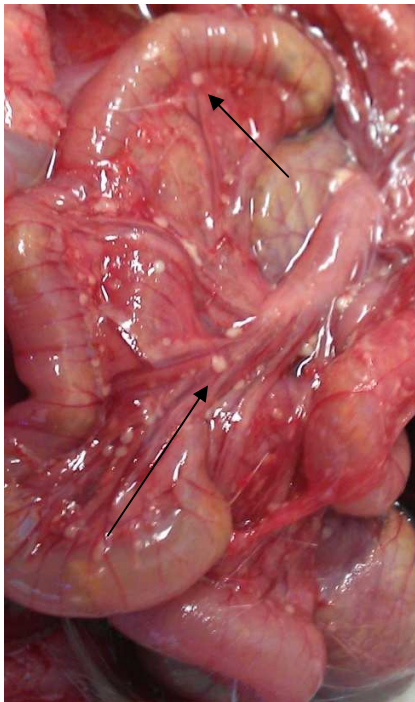


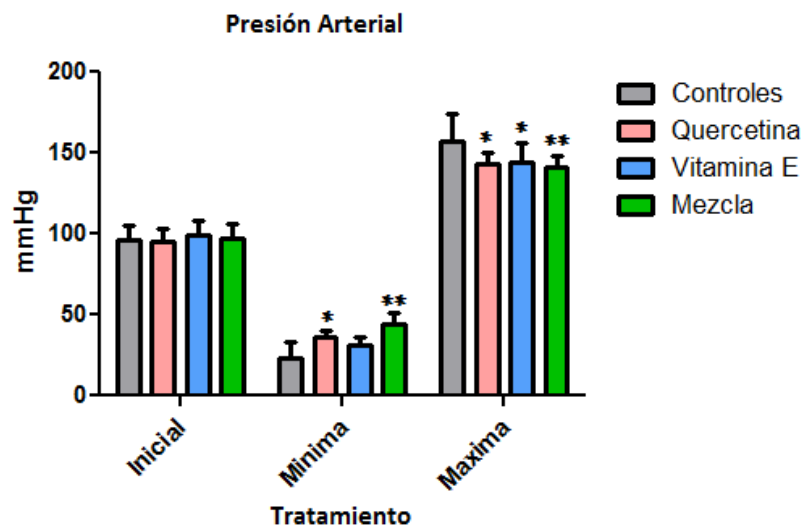
Fig. 29. Presencia de pio peritonitis (nódulos de pus debido a la respuesta del peritoneo a los agentes externos, múltiples focos inflamatorios (grupo 3)

Debido a este problema presentado, se optó por cambiar la vía intraperitoneal por la vía oral a los mismos tiempos indicados anteriormente.

8.3.1 Tratamientos preventivos con Quercetina y Vitamina E

8.3.1.1 Presión Arterial

En la grafica 1 se puede observa la presión arterial inicial de todos los tratamientos tratados e inoculados con veneno donde no se observa diferencia significativa entre ellos.

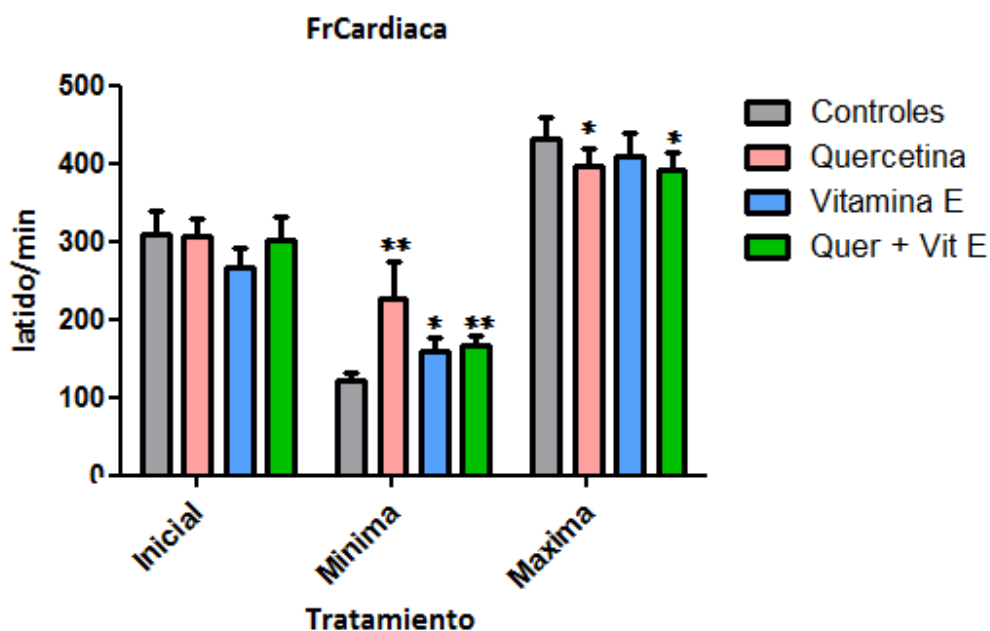


Graf. 1. Presión arterial presentada por los diferentes tratamientos preventivos. Los valores Representan la media \pm desviación estándar con $n = 8$. El nivel de significancia Estadística es $* = P < 0.05$, $** = P < 0.01$.

En la grafica 1 se observa la presión arterial mínima a partir del inicio de los cambios electrocardiográficos obtenida por los diferentes tratamientos, donde se puede observar una diferencia significativa entre el tratamiento de quercetina en comparación de los controles y una diferencia altamente significativa entre el tratamiento de quercetina + vitamina E con respecto a al control. Sin embargo en el tratamiento con Vitamina E no se observa diferencia significativa. Se observa la presión arterial máxima a partir del inicio de los cambios electrocardiográficos, obtenida por los diferentes tratamientos, donde se puede observar una diferencia significativa entre el tratamiento de quercetina y vitamina E en comparación de los controles y una diferencia altamente significativa entre el tratamiento de quercetina + vitamina E con respecto a al control.

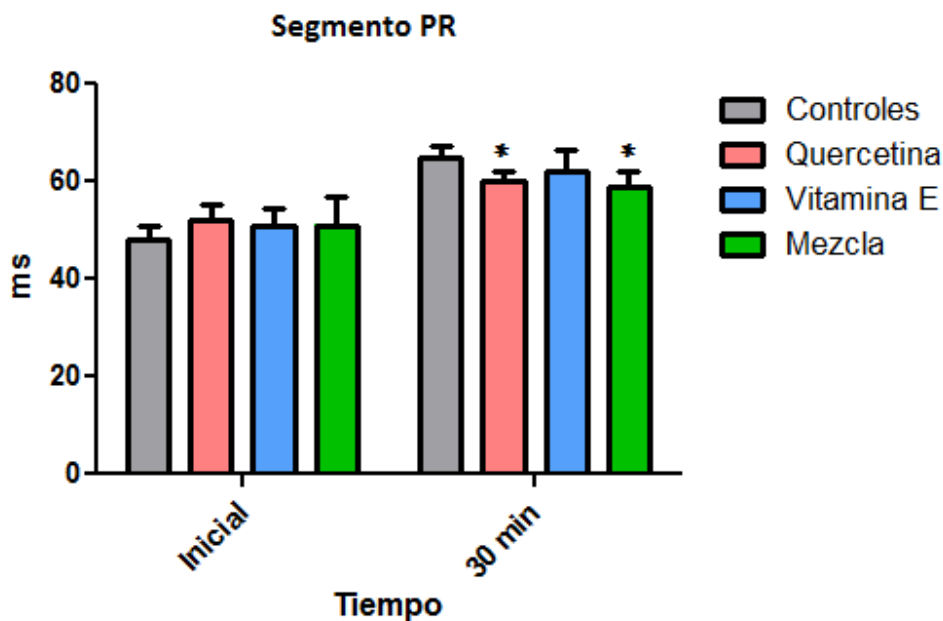
8.3.1.2 Electrocardiograma

En los registro de electrocardiograma de los controles (inoculados sin tratamiento) y los 3 tipos de tratamientos se puede observar una frecuencia cardiaca mayor de 300 latidos/min en todos los tratamientos sin haber diferencia significativa entre los 4 grupos (Graf 2).



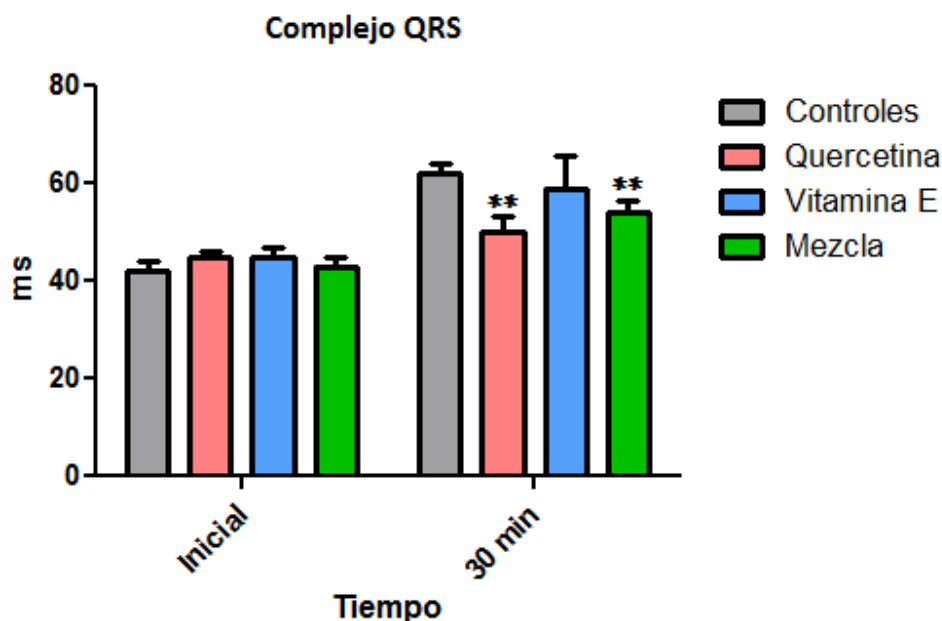
Graf 2. Frecuencia cardiaca en ratas con tratamiento preventivo. Los valores Representan la media \pm desviación estándar con n = 8. El nivel de significancia Estadística es * = P < 0.05, **= P<0.001.

Después de aplicar el veneno existen episodios de bradicardia y taquicardia, presentándose frecuencias cardiacas mínimas, presentando las menores por los controles y las más altas la quercetina. La quercetina presenta una diferencia altamente significativa en comparación con los controles al igual que el tratamiento de quercetina junto con la vitamina E. En los episodios de taquicardias se puede observar que los latidos suben a 400 o más latidos por minuto, no se observa diferencia significativa entre el tratamiento con quercetina y vitamina E en comparación con los controles. En cambio el tratamiento con la mezcla de quercetina y vitamina E se observa una diferencia significativa en comparación con el control.



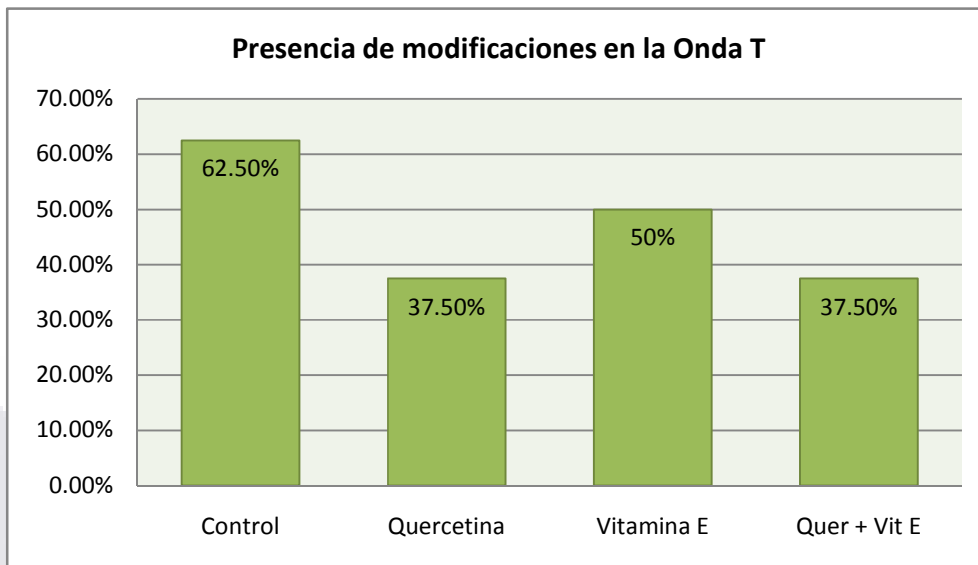
Graf. 3. Tiempo del segmento PR en milisegundos. Los valores Representan la media \pm desviación estándar con $n = 8$. El nivel de significancia Estadística es $* = P < 0.05$, $** = P < 0.01$.

El segmento PR corresponde al período que va desde el comienzo de la despolarización auricular, hasta el comienzo de la de la activación ventricular, en la grafica 3 se observa que el grupo control presenta una media de 65 ms 30 minutos después del inicio de los cambios electrocardiográficos, se puede observar una diferencia significativa entre el control y el grupo de la quercetina el cual es de 57 ms. Con los grupos de Vitamina E y la mezcla de ambos antioxidantes no se muestra diferencias significativas.



Graf. 4. Tiempo del complejo QRS en milisegundos. Los valores Representan la media \pm desviación estándar con $n = 8$. El nivel de significancia Estadística es $* = P < 0.05$, $** = P < 0.01$.

El complejo QRS es la representación gráfica de la despolarización de los ventrículos del corazón formando una estructura picuda en el electrocardiograma, un cambio en la duración de este complejo nos indica infarto al miocardio, o representar trastornos de la conducción o transmisión del impulso eléctrico, las cuales pueden originarse en cualquier punto del trayecto de las fibras de conducción. Podemos observar en la grafica 4 al momento de iniciar la toma de las variables electrocardiográficas, antes de aplicar el veneno todos los grupos presentan un promedio de 43 mseg. A los 30 minutos de haber aplicado el veneno podemos observar que en el grupo control el tiempo aumenta a 63 mseg, el grupo tratado con quercetina muestra una diferencia altamente significativa presentando un tiempo de 50 mseg. El grupo tratado con vitamina E muestra una disminución sin ser significativa a 59 mseg. Y el grupo tratado con quercetina y vitamina E muestra una diferencia significativa a 54 mseg.

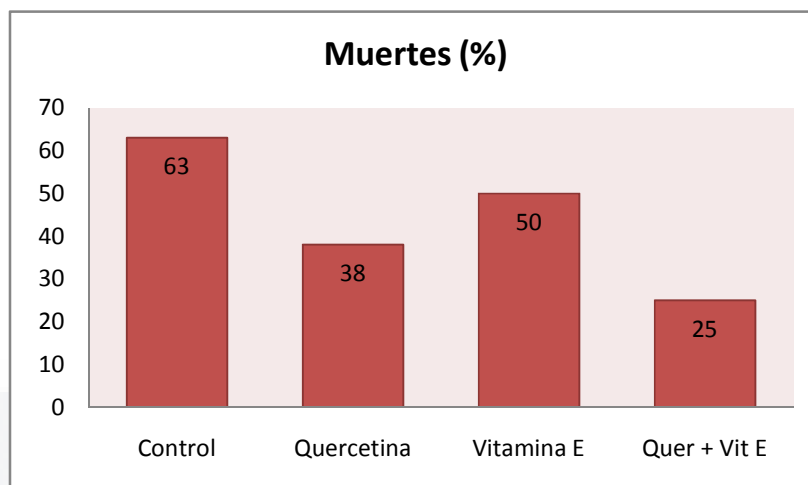


Graf 5. La grafica presenta alteraciones en la onda T presentadas durante la intoxicación con veneno de *C infamatus*, en porcentajes.

La presencia de ondas T modificadas es un indicador en diferentes estados de isquemia. En la grafica 5 se observa que las ratas control presentan un 62 % de ondas T modificadas, en el grupo a las cuales se les administro quercetina presentan una disminución a 37.5 % las ratas con tratamiento de Vitamina E presentan un 50 % y el grupo de quercetina mas vitamina E presentan el mismo porcentaje que las tratadas con quercetina.

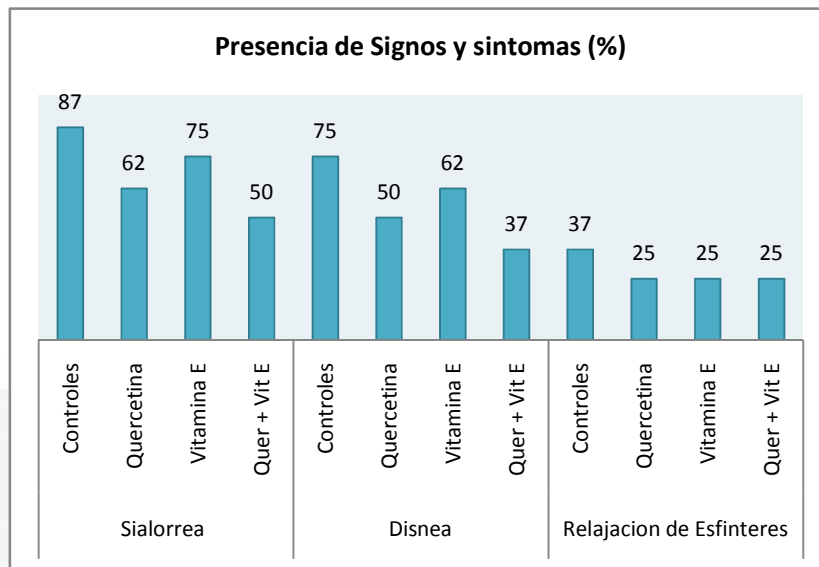
8.3.1.3 Muertes y presencia de signos y síntomas

Al realizar el tratamiento preventivos con quercetina vitamina E y una mezcla de ambos durante 15 días, se observa una disminución de mortalidad de las ratas. En el grupo control (ratas sin antioxidantes) se presenta un 63% de muertes en comparación con las tratamientos con quercetina de un 38 %, vitamina E un 50 % y una mezcla de vitamina E y quercetina de un 25 %, siendo este ultimo la diferencia mas considerable (Graf 6).



Graf. 6. Porcentaje de muertes a la hora de inoculación de veneno, en los diferentes tratamientos. (Ratas control con veneno y sin antioxidantes).

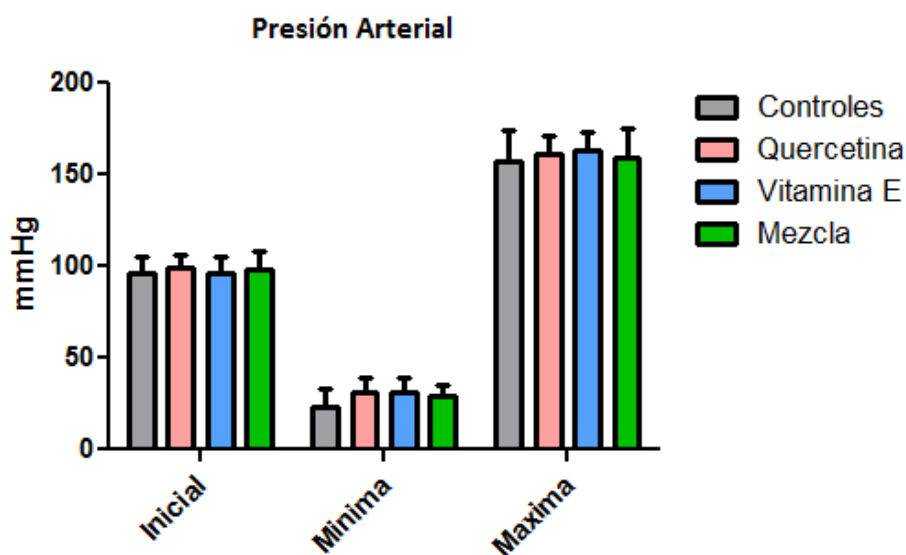
En la grafica 7 se observan los principales signos y síntomas presentados en la intoxicación por veneno de *C infamatus* en porcentajes. En el caso de sialorrea, que es la excesiva producción de saliva, el grupo control muestra un 87 % de presencia, la quercetina muestra una disminución de este signo a un 62 %, el grupo de la vitamina muestra un 75 % y el grupo con mayor disminución de este signo es el grupo con tratamiento de quercetina y vitamina E con un porcentaje de presencia del 50 %. En el caso de la disnea que es la dificultad respiratoria, el grupo control presento un 75 % de presencia, los grupos tratados con antioxidantes mostraron una ligera disminución, en grupo de la quercetina presenta un 50 %, el grupo de vitamina E 62 % y el grupo con mayor disminución con un 37 %. En el caso de la relajación de esfínteres el grupo control presento un 37 % de presencia, y todos los grupos tratados presentan una disminución a 25 %.



Graf. 7. Se observa los porcentajes de ratas que presentan diferentes signos por la intoxicación del veneno de alacrán en cada tratamiento utilizado.

8.3.2 Tratamiento curativo con Quercetina y Vitamina E (dosis únicas)

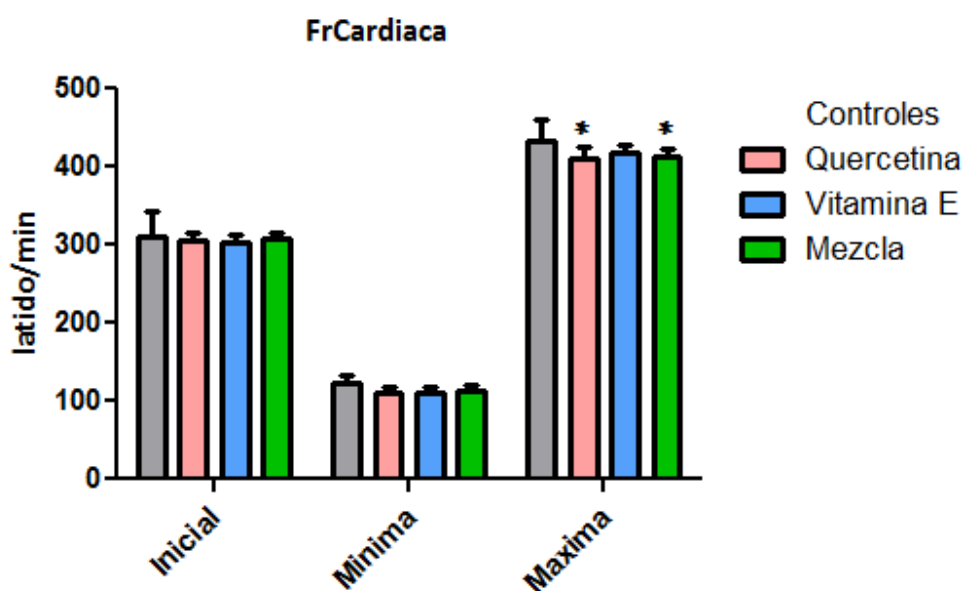
8.3.2.1 Presión arterial



Graf 8. Muestra las presiones iniciales, mínima y máxima de cada tratamiento utilizado en dosis únicas. Los valores Representan la media ± desviación estándar con n = 8. El nivel de significancia Estadística es * = P < 0.05, **= P<0.01.

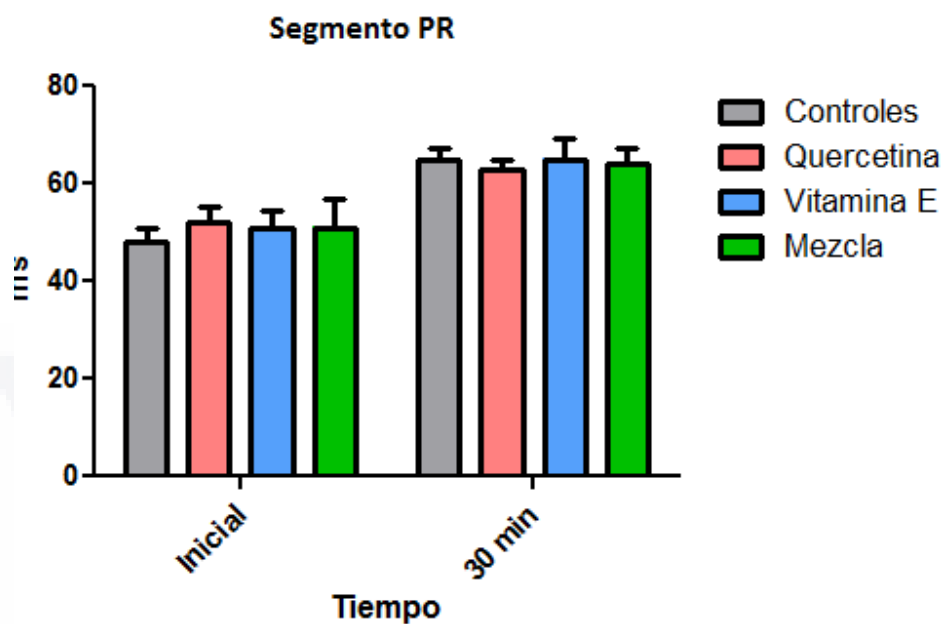
En la grafica 8 se observa la presión arterial inicial donde no se observa diferencia significativa entre ningún tratamiento. También se observan las presiones arteriales máximas y mínimas a partir del inicio de los cambios electrocardiográficos obtenida por los diferentes tratamientos donde se puede observar que no existe diferencia significativa entre ninguno de los tratamientos en comparación con el controles (animales inoculados sin tratamiento antioxidante)

8.3.2.2 Electrocardiograma



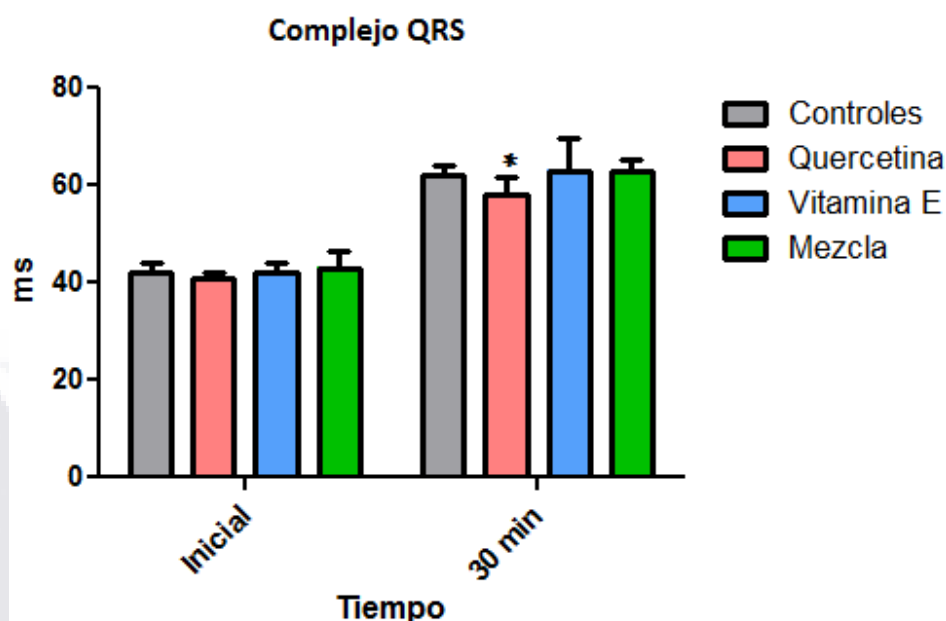
Graf. 9. Muestra la frecuencia cardiaca inicial, mínima y máxima de cada tratamiento utilizado en dosis únicas. Los valores Representan la media \pm desviación estándar con $n = 8$. El nivel de significancia Estadística es * = $P < 0.05$, **= $P < 0.01$.

En la grafica 9 se puede observar que no existe diferencia significativa en la presión arterial entre los diferentes tratamientos antes de la aplicación del veneno. En la presión arterial mínima presentada tampoco se observa diferencia significativa, en cambio en las presiones arteriales máximas presentadas en el envenenamiento se observa diferencias significativas, entre el grupo control con el grupo tratado con quercetina, y con el grupo tratado con la mezcla de Quercetina y la Vitamina E.



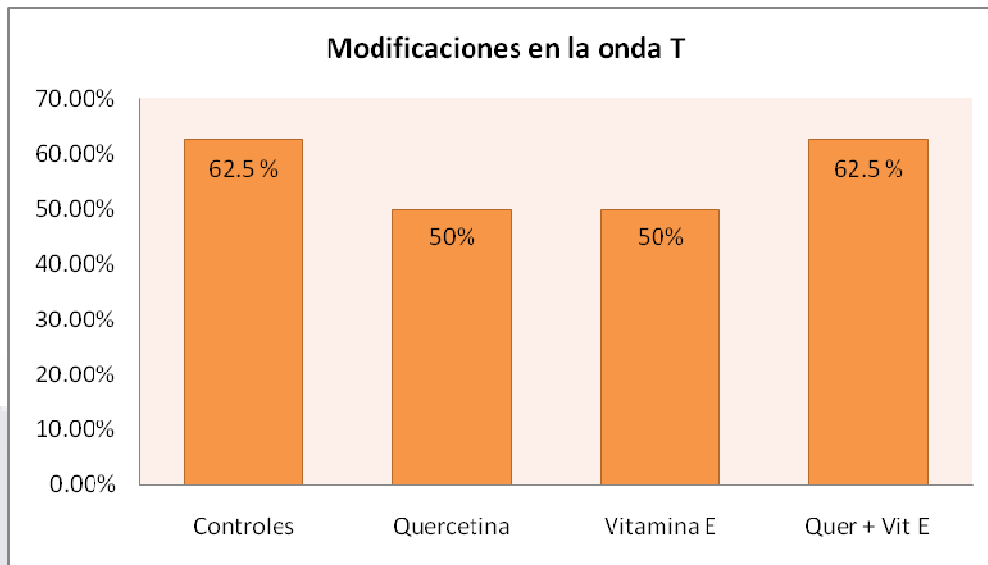
Graf 10: Tiempo del segmento QRS en milisegundos. Tomado antes de la aplicación del veneno y a los 30 minutos después de la aplicación del veneno. Los valores Representan la media \pm desviación estándar con $n = 8$. El nivel de significancia Estadística es $* = P < 0.05$, $** = P < 0.01$.

En la grafica 10 se observa los tiempo que dura el segmento PR la media que presentan los 4 grupos es de 50 mseg. A los 30 minutos de la aplicación del veneno, se puede observar una diferencia significativa entre el control y el grupo de la quercetina el cual es de 57 mseg. Con los grupos de Vitamina E y la mezcla de ambos antioxidantes no se muestra diferencias significativas.



Graf. 11: Tiempo del complejo QRS en milisegundos en ratas tratadas con antioxidantes con dosis única comparadas con ratas controles (Inoculación de veneno, sin antioxidantes). Los valores representan la media \pm desviación estándar con $n = 8$. El nivel de significancia Estadística es $* = P < 0.05$, $** = P < 0.01$.

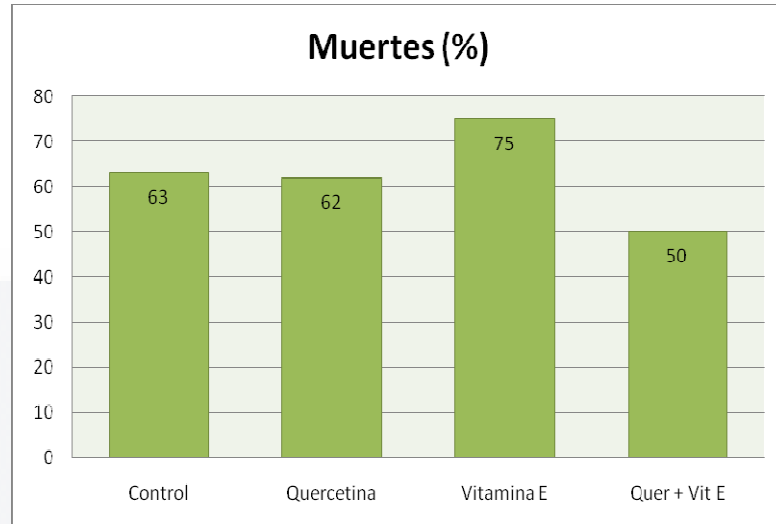
El complejo QRS como mencionamos anteriormente si existe algun cambio en el tiempo nos indica infarto al miocardio, o representa trastornos de la conducción o transmisión del impulso eléctrico, las cuales pueden originarse en cualquier punto del trayecto de las fibras de conducción. El tiempo inicial medio del complejo QRS en los 4 grupos fue de 42 mseg. Después de 30 minutos de aplicar el veneno se observa que los grupos controles aumentaron el tiempo de este complejo a 65 mseg, existiendo una diferencia significativa con el grupo tratado con quercetina de 58 mseg a diferencia de los grupos tratados con vitamina E y quercetina con vitamina E que no presentan diferencias significativas, presentando un tiempo de 62 y 63 mseg respectivamente.



Graf. 12. Muestra las modificaciones en la onda T presentada los diferentes tratamientos con antioxidantes, comparada con los obtenidos con los controles (Inoculados con veneno, sin antioxidantes).

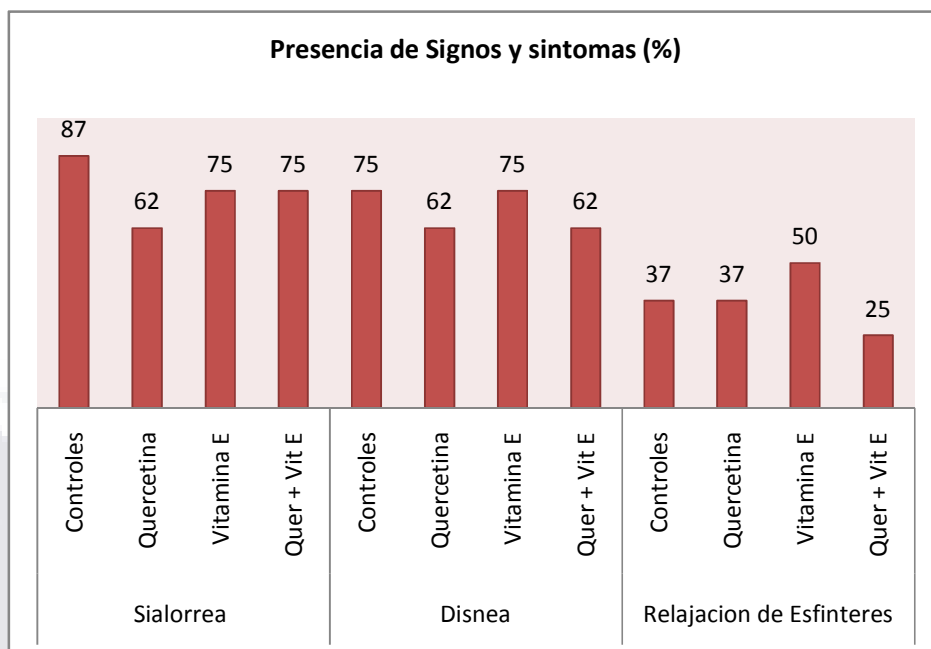
En la grafica 12 se observa que las ratas control presentan un 62 % de ondas T modificadas, en el grupo a las cuales se les administro quercetina presentan una disminuci3n a 50 % al igual que las ratas con tratamiento de Vitamina E presentan. El grupo de quercetina mas vitamina E presentan el mismo porcentaje que los controles.

8.3.2.3 Muertes y presencia de signos y síntomas



Graf. 13. Comparacion de las muertes presentadas en porcentaje por los diferentes grupos tratados con antioxidantes con dosis unica, con los controles (inoculados con veneno, sin antioxidantes)

En la grafica 13 se observan las muertes presentadas en los grupos tratados con dosis unica de antioxidantes. El grupo control muestra una porcentaje de 63 % al igual que el grupo de quercetina por lo que no existe ninguna diferencia. El grupo tratado con quercetina muestra un aumento al 75 % y el grupo tratado con la mezcla de ambos antioxidantes presenta una reduccion al 50 %.



Graf 14: Signos y síntomas presentados por la intoxicación de veneno de *C infamatus* en grupos tratados con antioxidantes con dosis únicas, comparados con el grupo control (inoculados con veneno, sin tratamiento de antioxidantes)

En la grafica 14 se observan en el caso de sialorrea , el grupo control muestra un 87 % de presencia, la quercetina muestra una disminución de este signo a un 62 %, el grupo de la vitamina muestra un 75 % y el grupo con tratamiento de quercetina y vitamina E con un porcentaje de presencia del 75 %. En el caso de la disnea el grupo control presento un 75 % de presencia, los grupos tratados con antioxidantes mostraros una ligera disminución, en grupo de la quercetina presenta un 62 %, el grupo de vitamina E 75 % y el grupo de quercetina y vitamina E con 62 %. En el caso de la relajación de esfínteres el grupo control presento un 37 % de presencia, el grupo tratado con quercetina 37 %, el grupo de vitamina E un 50% y el grupo de quercetina y vitamina E 25 %.

9. DISCUSIÓN

Luego de administrar a las ratas el veneno del alacrán *Centruroides infamatus* (2 μ L por vía subcutánea), los cambios iniciales electrocardiográficos y de la presión arterial se observaron desde los primeros 5 minutos. Sin embargo, a los 10 minutos se presentaron cambios en la onda T y en el complejo QRS. Esto también se observa en los humanos según lo reportado por Poon King (1992). Se presenta una onda T picuda, con episodios de elevada presión arterial y frecuencia cardiaca de 420 latidos por minuto; posteriormente, disminuyen la frecuencia cardiaca y la presión arterial.

Los cambios anteriores son causados por el efecto de las escorpaminas, ya que ingresan a la circulación en los primeros 5 a 7 minutos y actúan a nivel de los canales iónicos de la membrana celular retardando la liberación de Na^+ y prolongando el potencial de acción, con aumento del tiempo para integrar la corriente generada por las membranas excitables de las células efectoras, mientras que otras incrementan la liberación de acetilcolina (células parasimpáticas) y catecolaminas a nivel simpático (Gueron M., Illian R., Sofer S., 1992). Las catecolaminas actúan en las células del miocardio produciendo la acumulación de Ca^{++} y un aumento en el requerimiento de O_2 , lo que cambia la contractilidad del miocardio aumentando la fuerza de la contracción (Silverthorn y col. 2008). Esto causa hipoxia miocárdica lo que se refleja en la onda T (Díaz P., 2002). Se ha reportado que las catecolaminas actúan durante 2-3 minutos (Ismail, 1995; Peaston, 2004), por lo que los primeros efectos causados al corazón se atribuyen en gran parte a ellas. A su vez, la acetilcolina produce vasodilatación, fenómeno que se incrementa bajo condiciones de estrés por hiperproducción y potenciación en la acción de este neurotransmisor, como en el caso del piquete de *C infamatus* (Ferreira, 1993).

Además, la producción de óxido nítrico (NO) también puede ser inhibida como respuesta de la agresión al endotelio, resultando por consiguiente en un aumento del tono vascular lo que produce una elevada presión arterial (Melgarejo, 2005) El NO tiene un efecto vasodilatador ya que induce la relajación de las células musculares lisas de los vasos sanguíneos. Así, al no haber NO se incrementa la presión arterial como se presentó en este trabajo. Por otro lado, cuando el NO reacciona con moléculas de O_2 , procedente de la auto-oxidación de las catecolaminas, se produce

el dióxido de nitrógeno (NO_2), y esto inicia la peroxidación lipídica (White CR, Brock TA, Chang LY, et al, 1994). El NO también es tóxico si reacciona con radicales superóxido (O_2^\ominus) ya que genera peroxinitrito (ONOO^\ominus), una reacción que ha sido implicada en la vasoconstricción de las células del músculo liso vascular (Nakasono K, et al, 1991)

Después de este tiempo, persisten las alteraciones ocasionadas en el miocardio por las escorpaminas. Se conoce que las escorpaminas bloquean canales de K^+ en los vasos sanguíneos (Carbajal J., Pastrana E., Chávez M., 1999), al bloquearse estos canales no se produce una hiperpolarización de la célula, lo que ocasiona que no se cierren los canales de Ca^{++} y se concentre una gran cantidad de Ca^{++} en el citosol, lo que evita la relajación de los vasos sanguíneos produciéndose la presión arterial elevada (Ignarro, 1987).

Las escorpaminas de cadena larga (más de 130 aminoácidos) actúan sobre la permeabilidad del Ca^{++} en las membranas excitables y esta alteración afecta las células autorritmicas que da como consecuencia el bloqueo en la onda de despolarización, a través de las células de conducción (Silverthorn 2008), presentándose alteraciones electrocardiográficas como: bloqueos de las ramas derecha e izquierda del haz de his (Díaz, 2002), además de presentarse bloqueos auriculoventriculares como los observados a los 12 minutos de la aplicación de veneno del alacrán, ya que la conducción de las señales eléctricas desde las aurículas hasta los ventrículos, a través del nodo AV, está interrumpida y se acompaña de una disminución muy marcada de la presión arterial (a 50 mmHg) y una bradicardia de 120 latidos por minutos.

Después de 25 minutos, se observa fibrilación ventricular y las catecolaminas causan estrés severo en el miocardio, lo que resulta en isquemia subendocárdica que evoluciona a la necrosis e infarto del músculo cardiaco. También se generan radicales libres y se estimula la peroxidación lipídica de la membrana del miocardio. El estrés oxidativo en el miocardio deprime el transporte de Ca^{++} del sarcolema y los resultados en el desarrollo de una sobrecarga intracelular de Ca^{++} y disfunción ventricular; después de la acción de las catecolaminas las escorpaminas producen una hipertensión pronunciada, responsable de la falla cardiaca, así como del edema agudo de pulmón, insuficiencia cardiaca y muerte (Gueron 1992).

Las dosis más bajas del veneno del alacrán utilizadas en este trabajo (0.10 y 0.20 μL) produjeron episodios de elevada presión arterial y frecuencia cardiaca, así como episodios de baja presión arterial y frecuencia cardiaca disminuida. Esto posiblemente se debió a que las pequeñas cantidades de escorpaminas son capaces de dañar los canales de Na^+ y causar liberación de catecolaminas y acetilcolina. Además, la dosis de 0.25 μL genera: episodios de aumento y disminución de la presión arterial y de la frecuencia cardiaca, alteraciones cardiacas como cambios en el ritmo cardiaco, alteraciones de la onda T, alteraciones de activación ventricular y cambios en el complejo de QRS. Dicha concentración fue utilizada para la inoculación de los diferentes grupos mencionados anteriormente.

Luego de la administración oral de quercetina (6.25 mg/Kg/día), vitamina E (2 mg/kg/día) y de una mezcla de ambos antioxidantes a las dosis antes descritas, durante 14 días, se aplicó el veneno (día 15), a dosis de 0.25 μL . Se observaron y compararon los cambios presentados en el electrocardiograma y la presión arterial. Los resultados de la presión arterial y frecuencia cardiaca (gráficas 1 y 2) no muestran diferencias significativas entre los 3 grupos tratados con relación a los controles, teniendo valores medios de 96 mmHg de presión arterial y de 308 latidos/minutos en la frecuencia cardiaca.

Comparando los grupos controles con los tratados con quercetina se observaron diferencias en la presión arterial máxima: controles (157 mmHg) y grupo quercetina (143 mmHg); además, el grupo control presentó una presión arterial mínima de 23 mmHg y el grupo de quercetina 36 mmHg. A su vez, en frecuencia cardiaca se presentaron diferencias significativas: grupo control (valor máximo de 432 latidos/min y mínimo de 122 latidos/min) y grupo quercetina (de la acción del veneno en las ratas es el aumento de la presión arterial y de la frecuencia cardiaca frecuencia máxima de 406 latidos/min y mínima de 229 latidos/min). Luego se presentó un desplome de ambos indicadores, debido posiblemente a la liberación súbita de catecolaminas y acetilcolina.

Conviene señalar que la alteración en la relajación de la fibra miocárdica es quizá la manifestación más temprana de daño en la función contráctil (disfunción diastólica) producida por la hipertensión. La disfunción diastólica se manifiesta como una reducción en la velocidad de

relajación miocárdica que puede llegar a producir disminución del gasto cardiaco. Los mecanismos involucrados en la disfunción cardiaca incluyen: a) una menor producción de energía al disminuir la respiración mitocondrial, b) al incremento en el estrés oxidativo de las células y c) una mayor expresión de proteínas defectuosas, tanto contráctiles como regulatorias del Ca^{++} intracelular. Las mitocondrias en las células endoteliales tienen una función muy importante en la señalización celular como sensores de las concentraciones locales de oxígeno y reguladores de la producción de ON (Escalante et al, 2012).

La quercetina es capaz de originar relajación de los vasos sanguíneos a través del estímulo del endotelio y la liberación de NO. La quercetina provoca un incremento rápido de la concentración de Ca^{++} citosólico, generando una elevación del NO (Khoo et al, 2010). Dicha molécula es producida en el organismo como vasodilatador lo que se puede ver reflejado en la disminución de la presión arterial y la frecuencia cardiaca. Además, la quercetina protege al NO de la oxidación por radicales libres tanto en el exterior de las células como en el interior (Lopez – Lopez et al ,2004).

Las catecolaminas causan estrés severo en el miocardio. También genera radicales libres y estimula la peroxidación lipídica en la membrana del miocardio (Punithavathi V., Stanely P., 2010). La quercetina protege frente al daño oxidativo celular debido a su poder antioxidante y a su capacidad para incorporarse a las membranas (Saija et al, 1995b; Arora et al, 2000; Areias et al, 2001; Hendrich, 2006), ejerciendo un efecto de ordenamiento de la región hidrocarbonada de la bicapa lipídica (Arora et al, 2000; Oteiza et al, 2005), lo que dificulta la acción oxidante de los radicales libres sobre la membrana (Kagan et al, 1990; Arora et al, 2000; Barros et al, 2001; Hendrich, 2006), previniendo así el daño oxidativo celular a nivel del miocardio.

La incorporación de la quercetina a las membranas de las células del miocardio sirve como protección contra las escorpaminas, también puede modificar su permeabilidad, y por tanto, alterar sus funciones como barrera biológica (Saija et al, 1995a; Saija et al, 1995b) incrementando la permeabilidad de la membrana (Castelli et al, 1999). Esto permite el intercambio iónico, alterado por las escorpaminas, responsable del sistema de conducción cardiaco, lo cual se puede observar en el segmento PR (periodo de la despolarización auricular hasta el comienzo de la

activación ventricular), ya que a los 30 minutos, el grupo control mostró un tiempo de 65 ms y el grupo de la quercetina 60 ms, siendo significativa la diferencia. Asimismo, en el complejo QRS (despolarización ventricular), el grupo control presentó 62 ms y el grupo tratado con quercetina presentó 50 ms, presentando una diferencia altamente significativa.

Abundando sobre este tema, se puede señalar que la actividad antioxidante de los flavonoides, como la quercetina, resulta de una combinación de sus propiedades quelantes y secuestradoras de radicales libres. Además, la inhibición de oxidasas, como lipooxigenasa (LO), ciclooxigenasa (CO), mieloperoxidasa (MPO), NADPH oxidasa y xantina oxidasa (XO), evita la generación in vivo de especies reactivas de oxígeno (ERO), así como de hidroperóxidos orgánicos. Por otra parte, los flavonoides también inhiben enzimas involucradas indirectamente en los procesos oxidativos, como la fosfolipasa A2 (FLA2), al mismo tiempo que estimulan otras enzimas con reconocidas propiedades antioxidantes como la catalasa (CAT) y la superóxido-dismutasa (SOD). De esta forma los flavonoides interfieren en las reacciones de formación y propagación de radicales libres. De manera particular, la quercetina tiene efectos citoprotectores mediados por la disminución de la generación de radicales derivados del NO. Tales efectos son manifiestos en fibroblastos de la piel humana, queratinocitos, células endoteliales y ganglios sensoriales cultivados en presencia de sulfoxina-butionina, un inhibidor irreversible de la sintasa de glutatión (Huk et al, 1998; Shutenko et al, 1999). Además, previene la inflamación, evita la peroxidación lipídica y disminuye el depósito de colágeno y la fibrogénesis (Shoskes, 1998; William et al, 2000).

Para actuar como antioxidante, la quercetina secuestra oxígeno reactivo especialmente en la forma de aniones superóxido, radicales hidroxil, peróxidos lipídicos o hidroperóxidos. Por ello, bloquea los efectos nocivos de tales sustancias sobre las células. Asimismo, in vitro ha demostrado inhibir la oxidación por los macrófagos de las lipoproteínas de baja densidad (LDL), reduciendo con ello la citotoxicidad de las LDL oxidadas. La propiedad antioxidante de la quercetina se manifiesta también por la inhibición de la peroxidación lipídica, por mecanismos como la inhibición de la actividad de la fosfolipasa A2 en neutrófilos y la inhibición de la actividad de la ciclooxigenasa y lipooxigenasa en plaquetas indemnes (Sankara et al, 1972; Havsteen, 1983; Villar del Fresno, 1999; MERCK, 2000). La quercetina también tiene la capacidad de unirse a la cabeza polar de los fosfolípidos membranales, evitando así que los agentes oxidantes accedan a la fracción

hidrofóbica de las membranas. Esto protege a las células contra la lipoperoxidación, el evento inicial de daño celular (Erlejman et al, 2004).

Uno de los mecanismos por el cual la quercetina podría reducir el daño cardiovascular producido por el veneno de *C. infamatus* puede estar relacionado con sus propiedades antiinflamatorias y relajantes vasculares, a través del metabolismo del ácido araquidónico. En efecto, un desequilibrio en la síntesis de prostaglandinas puede provocar alteraciones cardiovasculares y renales. Al respecto, los flavonoides han mostrado ser inhibidores de la síntesis de eicosanoides porque inhiben las actividades de la lipooxigenasa (Yoshimoto et al, 1983) y de la ciclooxigenasa (Moroney et al, 1988). Este efecto supone la inhibición de mediadores vasoconstrictores (prostaglandinas vasoconstrictoras, tromboxanos, etc.) implicados en el daño cardiovascular producido por vasoconstricción. Estos mecanismos, además están estrechamente relacionados con la actividad más importante de la quercetina que es la antioxidante e inhibidora de la peroxidación lipídica (Das y Ray, 1988; Sahu y Washington, 1991 y 1992).

En este contexto, los antioxidantes como la vitamina E han demostrado ser efectivos en la profilaxis del envejecimiento prematuro y de enfermedades crónico degenerativas como la diabetes y la arteriosclerosis. Punithavathi y Stanely (2010) comprobaron que la vitamina E junto con la quercetina son capaces de ejercer un efecto cardioprotector en el infarto al miocardio inducido por Isoproterenol en las ratas.

El ataque oxidativo que sufren los ácidos grasos poliinsaturados por los radicales hidroxil ($\cdot\text{OH}$) y superóxido ($\text{O}_2\cdot$) produce radicales derivados de los lípidos (radicales peroxil) que prolongan la cadena de reacciones de oxidación. El α -tocoferol actúa como agente antioxidante in vivo protegiendo de manera particular a los ácidos grasos poliinsaturados de las membranas celulares. La oxidación de los fosfolípidos de las membranas conduce a un grave deterioro en las funciones de tales estructuras. La reactividad de la vitamina E con los radicales orgánicos peroxilos se asocia con las propiedades redox del anillo cromano y es la responsable de su capacidad antioxidante (Sies et al, 1995).

La vitamina E funciona in vivo como un antioxidante que protege a los lípidos tisulares del ataque por los radicales libres. Se han reportado constantes de velocidad para la reacción de los tocoferoles con varios radicales peroxilo que van desde 1×10^4 hasta $1 \times 10^9 \text{ mol L}^{-1} \text{ s}^{-1}$. Esta alta reactividad es de gran importancia en las membranas, porque los tocoferoles al reaccionar con los radicales peroxilos lipídicos generan hidroperóxidos lipídicos relativamente estables (Flebes et al, 2002).

10. CONCLUSIONES

Los efectos cardiovasculares presentados por el alacrán *Centruroides Infamatus* con alteraciones en la contractibilidad del miocardio, incrementos en los requerimientos de oxígeno y acumulación de calcio lo que se observa en alteraciones electrocardiográficas en la onda T, trastornos de la conducción auriculoventricular, trastornos del ritmo cardiaco, de la repolarización ventricular, trastornos de la conducción interventricular, incrementos y disminuciones de la presión arterial. Además de presentan síntomas sialorrea, disnea y relajación de esfínteres.

Se observo que al aplicar antioxidantes de forma preventiva existe disminución de los signos y síntomas presentados por el envenenamiento por la picadura de *Centruroides Infamatus*. Además de la disminución de alteraciones electrocardiográficas como bradicardias, taquicardias, modificaciones de la onda T, alteraciones en el complejo QRS y disminución de las presión arterial máxima y mínima presentada. En el caso de los tratamientos curativos no existieron cambios significativos en los signos y síntomas presentados, ni en el caso de las alteraciones electrocardiográficas y de la presión arterial.

BIBLIOGRAFÍA

- 1) Aragón A., et al. Alacranismo. *Práctica Médica Efectiva*. 2003; 5(1).
- 2) Arts, I.C., Sesink, A.L., Faassen-Peters, M. y Hollman, P.C. (2004). The type of sugar moiety is a major determinant of the small intestinal uptake and subsequent biliary excretion of dietary quercetin glycosides. *Br.J.Nutr.* 91, 841–847.
- 3) Brigelius-Flohé R, Traber M. Vitamin E: function and metabolism. *FASEB J.* 1999; 13 (10):1145 – 55.
- 4) Brandan, N., Llanos, I., Díaz, D., Rodríguez A. Hormonas Catecolamínicas Adrenales. Cátedra de Bioquímica Facultad de Medicina. 2010. Universidad Nacional del Nordeste.
- 5) Bücherl W. Classification, Biology and Venom Extraction of Scorpions. In: Wolfgang Bücherl, Eleanor E.Buckley: *Venomous Animals and their Venoms*. Academic Press, New York 1971, pp. 317–348.
- 6) Benítez D., Vitaminas y oxidorreductasas antioxidantes: defensa ante el estrés oxidativo. *Revista Cubana de Investigación Biomédica*. 2006; 25(2).
- 7) Bosmans F., Tytgat J. Voltage-gated sodium channel modulation by scorpion α -toxins. *National Institutes of health*. 2007; 49(2):142-158.
- 8) Cardenas J., Jaramillo F.,
- 9) Celis A, Gaxiola-Robles R, Sevilla-Godínez E, Orozco Valerio MJ, Armas J. Tendencia de la mortalidad por picaduras de alacrán en México, 1979-2003. *Rev Panam Salud Pública*. 2007; 21(6):373–80.
- 10) Carbajal J., Pastrana E., Chávez M. Concentración de electrolitos en el suero de niños intoxicados por picadura de alacrán. *Rev. Mex. Pediatr.* 1999; 66(3):97-101.
- 11) Díaz Dueñas, Porfirio. Alteraciones electrocardiográficas en pacientes de 5 a 14 años de edad picados por escorpión (Tesis de Maestría – Universidad de Colima).
- 12) Díaz P., Chowell G., Ceja G., Auria T., Lloyd R. Prediatric electrocardiograph abnormalities following *Centruroides limpus tacomanus* scorpion envenomation. *Toxicon* 2005; 45: 27-31.
- 13) Domingos L. El alacrán y su piquete. Dirección General de Divulgación de la Ciencia UNAM. 2005.

- 14) Erlejman AG, Verstraeten SV, Fraga CG, Oteiza PI: The interaction of flavonoids with membranes: potential determinant of flavonoid antioxidant effects. *Free radical research*, 38(12): 1311-20, 2004.
- 15) Escalante Acosta B, Cardona Muñoz EG, Islas Carbajal MC, Rincón Sánchez AR: Daño cardiovascular y estrés oxidativo. En: *Estrés Oxidativo y su Impacto en la Salud* (Jaramillo JF, Rincón SAR y Martínez SMC, Editores), Universidad Autónoma de Aguascalientes, Textos Universitarios, 1ª Edición, Cap. 11, pp 273-298, 2012.
- 16) Escobar, E., Velásquez L., Rivera C. Separación e identificación de algunas toxinas del veneno de *Centruroides margaritatus* (Gervais, 1841) (Scorpiones: Buthidae). *Rev. Perú Biología*. 2003(2): 217-220.
- 17) Febles F. C., Soto F.C., Saldaña B. A., García T. B.E. (2002). VITAMINA E. ACTUALIZACIÓN. *Rev Cubana Estomatol Facultad de Estomatología. Instituto Superior de Ciencias Médicas de La Habana*;40(1):28-32
- 18) Ferreira S. History of the endothelial derived vasoactive factors. *Circulation* 1993, 87 (Suppl 1):1-5.
- 19) González E. Diversidad, taxonomía y hábitat de alacranes
- 20) Granja V., Martínez R., Chico P. Alacranismo. *Alergia, Asma e Inmunología Pediátricas*.1999; 8(4):109-112.
- 21) Granja V., Martínez R., Chico P. Epidemiología y cuadro clínico del Alacranismo. *Alergias, Asma e inmunología pediátricas*. Vol 8. Num 5. 1999. 135 – 138 pp.
- 22) Granja V., Martínez R., Chico P. Tratamiento del Alacranismo y costos. *Alergia, asma e Inmunología Pediátrica*. 1999; 8(4): 113-117.
- 23) Gueron M., Illian R., Sofer S., The cardiovascular system after scorpion envenomation. *Review. Clinical Toxicology*. 1992; 30(2): 245 – 258.
- 24) Gutiérrez I. et al. (2011) Picadura de alacrán y su relación con la enfermedad renal crónica infantil. *Salud pública Méx* vol.53 no.2.
- 25) Havsteen B: Flavonoids, a class of natural products of high pharmacological potency. *Biochem. Pharmacol*. 32: 1141-48, 1983.
- 26) HOFFMANN, A. El maravilloso mundo de los arácnidos.
- 27) Herrera E, Barbas C (2001). Vitamin E: action, metabolism and perspective. *J Physiol Biochem*. 2001; 57(2): 43 – 56.

- 28) Hertog M.: Content of potentially anticarcinogenic flavonoids of tea infusions, wines and fruits juices. *J. Agricult. Food Chemistry*.1993; 41: 1242-46.
- 29) Huk I, Brovkovich V, Nanobash Vili J, Weigel G, Neumayer C, Partyka L, Patton S, Malinski T: Bioflavonoid quercetin scavenges superoxide and increases nitric oxide concentration in ischaemia-reperfusion injury: an experimental study. *Br J Surg* 85 (8): 1080-1085, 1998.
- 30) Ignarro LJ, Buga GM, Wood HS, Byrns RE, Chaudhuri G. Endothelium-derived relaxing factor produced and released from artery and vein is nitric oxide. *Proc Natl Acad Sci USA* 1987; 84:9265-9269
- 31) Jiménez Ferrer, Jesús Enrique (2004). Evaluación farmacológica de especies vegetales utilizadas en la medicina Tradicional mexicana contra la picadura de alacrán. (Tesis de Doctorado-Universidad Autónoma Metropolitana).
- 32) Marfella R, Quagliario L, Nappo F, Ceriello A, Giugliano D. Acute hyperglycemia induces an oxidative stress in healthy subjects. *J Clin Invest* 2001; 4: 635-636.
- 33) Melgarejo, E. El endotelio: 25 años después. *Revista Med*, Julio, 2005; 13: 45 – 61.
- 34) MERCK S.A. Industrias Químicas. Bioflavonoides: Quercetina y Rutina. Informe a Profesionales. (2000). Villar.
- 35) Miller NJ, Rice-Evans C, Davies MJ, Gopinathan V, Milner A. A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates. *Clin Sci* 1993; 84: 407-412.
- 36) Monroy J., Monroy JM. Alacranes venenosos de México. *Revista mexicana de ciencias médicas y biológicas* 1960: 1 y 2 (1-6):1-19.
- 37) Moroney MA, Alcaraz MJ, Forder RA, Carey F, Hoult RS: Selectivity of neutrophil 5-lipoxygenase and cyclo-oxygenase inhibition by an anti-inflammatory flavonoid glycoside and related aglycone flavonoids. *J Pharmacy Pharmacol* 40:787-792, 1988.
- 38) Navarro C. Óxido nítrico, función renal y presión arterial. *Am J Hiper* 1994;1(3):141-4.
- 39) Sankara S et al: Flavonoids of eight Bignoniaceus plants. *Phytochemistry*, 11: 1499, 1972.
- 40) Sánchez Santos, Manuel. Efectos preventivos de quercetina sobre la disfunción endotelial. Universidad de Granada. España 2007.
- 41) Sies H, Stahl W: Vitamins E and C, β -carotene, and other carotenoids as antioxidants. *Am J Clin Nutr*; 62(Suppl):13155-215, 1995.

- 42) Shoskes DA: Effect of flavonoids quercetin and curcumin on ischemic renal injury: a new class of renoprotective agents. *Transplantation* 66 (2): 147-152, 1998.
- 43) Shutenko Z, Henry Y, Pinard E, Seylaz J, Potier P, Berthet F, Girard P, Sercombe R: Influence of the antioxidant quercetin in vivo on the level of nitric oxide determined by electron paramagnetic resonance in rat brain during global ischemia and reperfusion. *Biochem Pharmacol* 57 (2): 199-208, 1999.
- 44) Nakasono K, Watanabe N, Matsuno K, et al. Does Superoxide underlie the patogénesis of Hipertensión? *Proc Natl Acad Sci USA* 1991; 88: 10045-10048.
- 45) Punithavathi V., Stanely P. The Cardioprotective Effects of a Combination of Quercetin and α -tocoferol on isoproterenol-induced myocardial infarcted rats. *Biochem Molecular Toxicology*. 2010; 25(1): 28-40.
- 46) Tedesco, I., I, Russo, M., Russo, P., Iacomino, G., Russo, G.L., Carraturo, A., Faruolo, C., Moio, L. y Palumbo, R. (2000). Antioxidant effect of red wine polyphenols on red blood cells. *J.Nutr.Biochem*. 11, 114-119.
- 47) Teixeira AL, Fontoura BF, Freire-Maia L, Machado CR, Camargos ER, Teixeira MM. (2001) Evidence for a direct action of *Tityus serrulatus* scorpion venom on the cardiac muscle *Toxicon*.
- 48) Tay L., Castillo L., Ruiz., Calderón L. Picaduras por alacranes y arañas ponzoñosas en México. *Revista de la facultad de Medicina*. 2004; 47(1): 6-12.
- 49) Van der Woude, H., Boersma, M.G., Alink, G.M., Vervoort, J. y Rietjens, I.M.C.M. (2006). Consequences of quercetin methylation for its covalent glutathione and DNA adduct formation. *Chem.Biol.Interact*. 160, 193–203.
- 50) Vázquez C., Galan P., Preziosi P., Ribas L., Sierra L. Estudio suvimax (Francia): el papel de los antioxidantes en la prevención del cáncer y l enfermedad cardiovascular. *Revista Española de Salud Publica*.1998; 72: 173-183.
- 51) Villar del Fresno: *Farmacognosia General*. Edit. Síntesis. España. 1999.
- 52) White CR, Brock TA, Chang LY, et al. Superoxide and Perynitrite in Atherosclerosis. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994; 91: 1044-1048.
- 53) Wang X, Takeda S, Mochizuki S, Jindal R, Dhalla NS. Mechanisms of hydrogen peroxide-induced increase intracellular calcium in cardiomyocytes. *J Cardiovasc Pharmacol Therapeut*, 1999;4:41-48.

- 54) William P, Tuñón MJ, Collado PS, Herrmann S, Maroni N, Gonzalez-Gallego J: The flavonoid quercetin ameliorates liver damage in rats biliary obstruction. *J Hepatol* 33: 742-750, 2000.
- 55) Yoshimoto T, Furukawa M, Yamamoto S, Horie T, Watanabe-Kohno S: Flavonoids: potent inhibitors of arachidonate 5-lipoxygenase. *Biochem Biophys Res Commun* 116 (2): 612-618, 1983.

