

**UNIVERSIDAD DE CIENCIAS COMERCIALES
SEDE CENTRAL MANAGUA**



**FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
COORDINACION DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA**

ALTERACIONES HISTOLÓGICAS Y HEMATOLÓGICAS INDUCIDAS POR
VENENO DE VÍBORA CASCABEL (*CROTALUS SIMUS*) EN RATONES (*MUS
MUSCULUS*) MANAGUA NICARAGUA. AGOSTO 2023

Autores:

Dra. Ligia Hernández Phd.MV.
Dr. William Jirón Phd.MV.

Tutor:

Lic. José Miguel Lara Lazo MV.

Managua, Nicaragua
Octubre 2023

ÍNDICE DE CONTENIDO

INTRODUCCIÓN	1
CAPITULO I: PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	4
1.1. Antecedentes y contexto del problema	4
1.2. Objetivos.....	5
1.2.1. Objetivo General.....	5
1.2.2. Objetivos Específicos.....	5
1.3. Descripción del problema y preguntas de investigación	6
1.3.1. Pregunta General	7
1.3.2. Preguntas Especificas	7
1.4. Justificación	8
1.5. Limitaciones.....	9
1.6. Variables.....	9
1.7. Supuestos Básicos	9
1.8. Categorías, temas y patrones emergentes de la investigación	9
1.9. Contexto de la Investigación	10
CAPITULO II: PERSPECTIVA TEORICA.....	11
2.1. Estado del Arte	11
2.2. Perspectiva Teórica Asumida.....	12
CAPITULO III: DISEÑO METODOLOGICO	24
3.1 Tipo de Investigación	24
3.2. Área de estudio.....	24
3.3. Población/Muestra teórica y sujetos de estudio	25
3.4. Técnicas e Instrumentos de Recolección de datos	28
3.5. Confiabilidad y validez de instrumentos/Criterios de calidad:	28

3.6. Procesamiento de datos y análisis de la información	28
3.7. Operacionalización de Variables	30
CAPITULO IV: ANALISIS DE RESULTADOS	38
4.1. Alteraciones hematológicas inducidas por el veneno de <i>Crotalus simus</i>	38
4.2. Alteraciones histológicas en tejido muscular y visceral inducidas por el veneno de <i>Crotalus simus</i>	50
CAPITULO V: CONCLUSIONES	64
CAPITULO VI: RECOMENDACIONES	66
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	67
ANEXOS.....	80

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA	PÁGINA
1.Descripción taxonómica	4
2.Número estimado de mordeduras por serpientes y especies de mayor importancia médica a nivel centroamericano	6
3. Composición del veneno de <i>Crotalus simus</i> , familias de proteínas y la proporción en qué se encuentran	11
4. Resumen las principales proteínas y las actividades tóxicas que se le atribuyen	13
5. Tabla de variables	20
6. Alteraciones cuantitativas del análisis hematológico de los diferentes grupos experimentales	29
7. Alteraciones cualitativas del análisis hematológico de los diferentes grupos experimentales	32
8. Alteraciones histológicas en tejido muscular encontradas en el grupo uno (G ₁)	40
9. Alteraciones histológicas en tejido visceral encontradas en el grupo uno (G ₁)	40
10. Alteraciones histológicas en tejido muscular encontradas en el grupo dos (G ₂)	41
11. Alteraciones histológicas en tejido visceral encontradas en el grupo dos (G ₂)	41
12. Alteraciones histológicas en tejido muscular encontradas en el grupo tres (G ₃)	42
13. Alteraciones histológicas en tejido visceral encontradas en el grupo tres (G ₃)	42

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA	PÁGINA
1. Componentes del veneno de <i>C. simus</i> . Diferencias entre individuo A) Adulto, B) Juvenil	10
2. Vista satelital de la Universidad de Ciencias Comerciales	16
3. Características taxonómicas de <i>Crotalus simus</i>	17
4. Alteraciones morfológicas encontradas en hematología en el G ₁ , una hora post inoculación	37
5. Alteraciones morfológicas encontradas en hematología en el G ₂ , tres horas post inoculación	38
6. Alteraciones morfológicas encontradas en hematología en el G ₃ , seis horas post inoculación	39
7. Alteraciones histológicas encontradas en tejido muscular	47
8. Alteraciones histológicas encontradas en tejido cerebral	48
9. Alteraciones histológicas encontradas en tejido pulmonar	49
10. Alteraciones histológicas encontradas en tejido cardíaco	50
11. Alteraciones histológicas encontradas en tejido hepático	51
12. Alteraciones histológicas encontradas en tejido esplénico	52
13. Alteraciones histológicas encontradas en tejido renal	53

ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO	PÁGINA
a. Ejemplar adulto de <i>Crotalus simus</i>	70
b. Aparato ponzoñoso de <i>Crotalus simus</i>	70
c. Centrifugado del veneno	71
d. Eliminación del sobrenadante	71
e. Colocación del sedimento en vial	71
f. Dilución del veneno en agua destilada	71
g. Pesaje de ratones <i>Mus musculus</i>	72
h. Sedación de ratones <i>Mus musculus</i> con Cloroformo al 4%	72
i. Inoculación del veneno de <i>Crotalus simus</i>	72
j. Individuos post inoculación	72
k. Ratones sacrificados mediante el método de dislocación cervical	73
l. Toma de muestra sanguínea	73
m. Disección de ratones	73
n. Muestras para remisión	73
ñ. Ficha de protocolo experimental	74

RESUMEN

Esta investigación tuvo por objetivo evidenciar las alteraciones inducidas por el veneno de *C. simus*, inoculado por vía intraperitoneal en ratones *Mus musculus*. Se realizaron estudios hematológicos e histopatológicos en un total de doce ratones, divididos en tres grupos de cuatro individuos, cada uno con su respectivo control (G₁, G₂, G₃). Los grupos fueron sacrificados una, tres y seis horas post inoculación. El estudio hematológico, evidenció en el G₁, eritrocitopenia, sólidos plasmáticos totales (SPT) elevados, leucocitosis, neutrofilia, eosinofilia, linfocitosis, monocitosis, trombocitosis, plasma icterico, anisocromía, poiquilocitosis, equinocitosis tipo I y II, cuerpos de Howell-Jolly, neutrófilos con granulaciones tóxicas y con núcleo en forma de anillo y linfocitos reactivos. En el G₂, hematocrito disminuido, eritrocitopenia, SPT elevados, leucocitosis, neutrofilia, linfocitosis, trombocitosis, plasma icterico y hemolizado, anisocromía, poiquilocitosis, anisocitosis, células diana, esferocitos, dacriocitos, cuerpos de Howell-Jolly, rouleaux, metamielocitos y mielocitos, neutrófilos con granulaciones tóxicas y con núcleo en forma de anillo y linfocitos reactivos, y en el G₃, eritrocitosis, SPT elevados, leucocitosis, neutrofilia, basofilia, linfocitosis, trombocitosis, plasma icterico, anisocromía, poiquilocitosis, células diana, esferocitos, dacriocitos, cuerpos de Howell-Jolly, rouleaux, mieloblastos y mielocitos, neutrófilos con granulaciones tóxicas y con núcleo en forma de anillo, macroplaquetas y linfocitos reactivos. Mientras que, en el estudio histopatológico, se encontraron las siguientes alteraciones: en el G₁, a nivel muscular: congestión, edema, hemorragia e infiltrado inflamatorio; en cerebro: congestión y edema; en pulmón: congestión y enfisema; en corazón: congestión; en hígado: congestión y hemorragia; en bazo: congestión, edema y aumento de la pulpa roja; en riñón: congestión, hemorragia, y dilatación del espacio urinífero. En el G₂, en músculo: infiltrado inflamatorio y edema; en cerebro: congestión y edema; en pulmón: congestión, enfisema y hemorragia; en corazón: congestión y hemorragia; en hígado: congestión y degeneración celular; en bazo: depleción de la pulpa roja y en riñón: congestión y hemorragia, para el G₃, en músculo: edema e infiltrado inflamatorio; en cerebro: edema y congestión; en hígado: congestión y

degeneración celular; en bazo: depleción de la pulpa roja e infiltrado inflamatorio y en riñón: congestión e infiltrado inflamatorio.

Palabras clave: Cascabel, *Crotalus simus*, ratones, *Mus musculus*, alteraciones, hematología, histopatología, metaloproteinasas, fosfolipasa A₂, serino proteinasas, hialuronidasas.

ABSTRACT

This research aimed to demonstrate the alterations induced by *C. simus* venom, inoculated intraperitoneally in *Mus musculus* mice. Hematological and histopathological studies were carried out in a total of twelve mice, divided into three groups of four individuals, each with its respective control (G₁, G₂, G₃). The groups were sacrificed one, three and six hours post inoculation. The hematological study showed in G₁, erythrocytopenia, total plasma solids elevated (TPS), leukocytosis, neutrophilia, eosinophilia, lymphocytosis, monocytosis, thrombocytosis, icteric plasma, anisochromia, poikilocytosis, echinocytosis type I and II, Howell-Jolly bodies, neutrophils with toxic granulations and ring-shaped nucleus and reactive lymphocytes. In G₂, decreased hematocrit, erythrocytopenia, elevated TPS, leukocytosis, neutrophilia, lymphocytosis, thrombocytosis, icteric and hemolyzed plasma, anisochromia, poikilocytosis, anisocytosis, target cells, spherocytes, dacryocytes, Howell-Jolly bodies, rouleaux, metamyelocytes and myelocytes, neutrophils with toxic granulations and ring-shaped nucleus and reactive lymphocytes, and in G₃, erythrocytosis and elevated TPS, leukocytosis, neutrophilia, basophilia, lymphocytosis and thrombocytosis, icteric plasma, anisochromia, poikilocytosis, target cells, spherocytes, dacryocytes, Howell-Jolly bodies, rouleaux, myeloblasts and myelocytes, neutrophils with toxic granulations and ring-shaped nuclei, macroplatelets and reactive lymphocytes. While, in the histopathological study were found, in G₁, at muscle: congestion, edema, hemorrhage and inflammatory infiltrate; in brain: congestion and edema; in lung: congestion and emphysema; in heart: congestion; in liver: congestion and hemorrhage; in spleen: congestion, edema and increased red pulp; in kidney: congestion, hemorrhage, and dilation of the urinary space. In G₂, in muscle: inflammatory infiltrate and edema; in brain: congestion and edema; in lungs: congestion, emphysema and hemorrhage; in heart: congestion and hemorrhage; in liver: congestion and cellular degeneration; in spleen: depletion of red pulp and in kidney: congestion and hemorrhage, for G₃, in muscle: edema and inflammatory infiltrate; in brain: edema and congestion; in liver: congestion and cellular degeneration; in spleen: depletion of the red pulp and inflammatory infiltrate and in kidney: congestion and inflammatory infiltrate.

Keywords: Rattlesnake, *Crotalus simus*, mice, *Mus musculus*, alterations, hematology, histopathology, metalloproteinases, phospholipase A2, serine proteinases, hyaluronidases.

INTRODUCCIÓN

El envenenamiento ha sido una de las preocupaciones que más ha conmovido a la humanidad porque conlleva en el peor de los casos la muerte ineludible de la persona que ha sido mordida por una serpiente, es por eso que “El ofidismo en el mundo es un importante problema sanitario al que debe prestarse especial atención por sus características epidemiológicas y clínicas” (Zúñiga y Caro, 2013 p.125).

El ofidismo es categorizada como una enfermedad tropical desatendida porque “La OMS en el 2017 incluyó la mordedura de serpiente en la lista de Enfermedades Tropicales Desatendidas” (OPS, 2022), incluso la OMS constato que esta enfermedad ha pasado de ser aperecida como un problema que repercute en el bienestar e integridad de los afectados, es por eso que lo ha reconocido, “aunque los datos están incompletos, la mortalidad y la morbilidad asociada a esta enfermedad se han subestimado” (OMS, 2019). Por esto, este estudio es relevante debido al análisis de los cambios inducidos por la inoculación del veneno de *Crotalus simus* en ratones (*Mus musculus*) en los diferentes tejidos de este roedor, para facilitar la comprensión de los efectos de este veneno a nivel molecular, celular y tisular.

Esta preocupación ocasionada por el envenenamiento por mordedura de serpiente “posee una mayor incidencia en regiones tropicales y subtropicales” (Lastra *et al.*, 2014 p.2). debido a que son atractivos potenciales para estos ofidios, que tienen como característica un cuerpo seco, además de que los climas que se presentan en estas regiones suelen ser estables sin tantos cambios climáticos los cuales afectan en las actividades metabólicas, fisiológicas, entre otras razones.

“La herpetofauna centroamericana es abundante y diversificada; se estima que el suborden serpientes está representado regionalmente por no menos de 180 especies, agrupadas en cinco principales familias: *Boidae*, *Colubridae*, *Hidropidae*, *Elapidae* y *Viperidae*” (Acevedo y Chávez, 2014 p.14). Esto representa a grandes rasgos la repercusión que suponen estas casi 180 especies de serpientes distribuidas en toda la región centroamericana, este hecho facilita la ocasión de

percances de ofidismo en los seres humanos al estar expuestos al asecho de estos reptiles.

“En Nicaragua, las serpientes de mayor importancia médica pertenecen a las familias *Elapidae* y *Viperidae*” (Acevedo y Chávez, 2014 p.17), Dicha importancia se debe a la creciente cantidad de accidentes que ocasionan en el entorno nicaragüense, al ser este un país tropical, genera las condiciones idóneas para que estas especies puedan poblarse, reproducirse mantenerse predominantes en esta clase de clima. “*Crotalus simus* ha sido reportada como una de las especies más letales a nivel latinoamericano” (Solano *et al.*, 2019), “y nacionalmente, ocupa el segundo lugar como causante de accidentes ofídicos” (MINSA, 2011 p.7). He aquí su impacto en el ámbito de la salud y seguridad humana, estableciéndose como una de las serpientes más perjudicialmente conflictivas para los ministerios que velan por la salud de los pobladores de una nación, y los países latinoamericanos no son la excepción.

“Estudios han demostrado la importancia de la caracterización de las actividades tóxicas de los venenos, pues es necesaria para el entendimiento de los procesos fisiopatológicos inducidos” (Roodt *et al.*, citado por Lara, 2019 p.211). Es decir que analizar los efectos tóxicos producidos por el veneno permiten identificar las características fundamentales, las cuales en la mayoría de los casos son “alteraciones locales y sistémicas compatibles con actividades hemorrágicas, coagulantes, miotóxicas y neurotóxicas” (Bolaños y Saravia *et al.*, citados por Castro *et al.*, 2013 p2).

“Su diagnóstico está fundamentado en el conocimiento detallado de las características del cuadro clínico y la actividad fisiopatológica del envenenamiento” (Urbay *et al.*, 2023 p.399) “En aquellos casos agudos donde se encuentra muerto al animal y es difícil ver la serpiente atacante” (Soler y Rodríguez, 2006 p.111) “para llegar a un diagnóstico definitivo es necesaria la evaluación post mortem macroscópica y microscópica de las lesiones” (Soler y Rodríguez, 2006 p.105)., todo este compendio de características y efectos señalan la repercusión en los animales

domésticos y no domésticos, que sufren de ofidismo mediante la mordedura de serpiente.

“Es importante recalcar el subregistro, que a su vez implica el subdiagnóstico, de accidentes ofídicos existentes tanto en animales domésticos, como de pastoreo” (Estrada *et al.*, 2014 p.1; Posada, 2015 p.151). “Por lo tanto, es preciso realizar un acercamiento a este fenómeno, a su comportamiento en otros países, las características de los cuadros clínicos en dependencia de la composición del veneno, y las medidas que deben emplearse en su tratamiento” (Posada, 2015 p.152). Es decir que la evaluación de los efectos a nivel de toxicidad por parte de los venenos provenientes de estos ofidios, permiten fundamentar las bases necesarias para poder desarrollar antídotos que combatan la toxina inducida en el cuerpo de los afectados.

CAPITULO I: PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1. Antecedentes y contexto del problema

Desde tiempos remotos la toxicidad de los venenos que producen las serpientes ha venido ocasionando situaciones peligrosas para las personas y animales asechadas por estos ofidios, de hecho, Metz, et al., citado por (Castrillón-Estrada et al., 2007, pág. 97). especifica que “Las serpientes venenosas y sus presas han coexistido durante aproximadamente 200 millones de años, y a pesar de que el ser humano no hace parte de su cadena alimenticia, el contacto del hombre con éstas hace que el envenenamiento ofídico todavía sea una causa importante de morbilidad y mortalidad humana a nivel mundial”.

En el 2011, el ministerio de salud de Nicaragua identificado que existen dos familias de serpientes, las cuales son:

- 1.- Las que ocasionan la mayoría de los accidentes de mordeduras, provocando inflamación y sangrado. En este grupo están la Barba Amarilla o Terciopelo, la Matabuey y la Serpiente de Cascabel. (familia Viperidae).
- 2.- Las corales o elapiedaes que afectan el sistema nervioso.

Cada una de estas familias son las que impactan en la población nicaragüense sin importar si están ubicadas en el casco urbano o no, afectando negativamente la salud e integridad de las personas, animales domésticos y de producción, mediante los efectos nocivos de estos ofidios.

En definitiva, el estudiar los efectos del veneno de *Crotalus Simus* en los ratones, brinda un soporte para futuras investigaciones que busquen desarrollar e implementar antídotos para esta clase de accidentes.

1.2. Objetivos

1.2.1. Objetivo General

Analizar los cambios inducidos por la inoculación del veneno de *Crotalus simus* en ratones (*Mus musculus*) en los diferentes tejidos.

1.2.2. Objetivos Específicos

Describir las alteraciones hematológicas inducidas por la inoculación de veneno de *Crotalus simus* en ratones (*Mus musculus*).

Identificar las alteraciones histológicas inducidas por la inoculación de veneno de *Crotalus simus* en ratones (*Mus musculus*) a nivel muscular y visceral.

1.3. Descripción del problema y preguntas de investigación

En el mundo “Las serpientes pertenecientes al género *Crotalus* se caracterizan por ser venenosas. Su veneno está compuesto por una variedad de proteínas que actúan sobre los tejidos, además de afectar la cascada de coagulación” (Pozas, 2019). Por lo tanto, son serpientes altamente peligrosas porque causan afectaciones a nivel de tejido, tales como: coagulación de sangre, complicaciones sistemáticas, daño en los vasos sanguíneos y en el peor de los casos la muerte de sus víctimas.

En los países Latinoamericanos existe un gran subregistro sobre accidentes ofídicos en animales “sin embargo, en países como Brasil se han realizado acercamientos al número de accidentalidad, el cual reporta aproximadamente 38 casos por año en un promedio de un periodo de tiempo de 43 años” (Estrada-Gómez et al., 2014)

En Centroamérica se dan muchos casos de mordeduras de serpientes, debido a que se contemplan climas tropicales en los países que componen América central, tal es el caso de Costa Rica, presentado mediante el artículo de revista de (José et al., 2020), en donde determinan que el “50 % de las mordeduras por serpientes ocurren en los pies y el 30 %, en las manos”, indicando las partes focales del cuerpo humano que a las serpientes se les facilita o que se mayormente frecuentan para atacar a sus presas.

Por lo tanto, esta investigación busca analizar los cambios inducidos por la inoculación del veneno de *Crotalus simus* en ratones (*Mus musculus*) en los diferentes tejidos, para describir e identificar las alteraciones hematológicas e histológicas inducidas por la inoculación de veneno de *Crotalus simus* en ratones (*Mus musculus*) a nivel muscular y visceral. En concordancia a esto se plantean las siguientes preguntas de investigación:

1.3.1. Pregunta General

¿Cuáles son los pasos a seguir para realizar un análisis de los cambios inducidos por la inoculación del veneno de *Crotalus simus* en ratones (*Mus musculus*) en los diferentes tejidos?

1.3.2. Preguntas Específicas

¿Cuáles son los criterios que permiten describir las alteraciones hematológicas inducidas por la inoculación de veneno de *Crotalus simus* en ratones (*Mus musculus*)?

¿Qué aspectos se deben tomar en cuenta para identificar las alteraciones histológicas inducidas por la inoculación de veneno de *Crotalus simus* en ratones (*Mus musculus*) a nivel muscular y visceral?

1.4. Justificación

El accidente ofídico es uno de los más letales en todo el mundo debido al peligro mortal del veneno producido por la mordedura de serpientes en los seres vivos, por ende, se considera como una problemática global que influye en la salud y bienestar de los humanos, y animales domésticos, productivos, entre otros.

La importancia de este estudio se sustenta en el hecho de desarrollar un análisis del veneno de *Crotalus simus* en ratones (*Mus musculus*) que permita estipular los efectos nocivos de este tóxico en los animales, facilitando las bases para desarrollar posibles antídotos que ayuden a los afectados por esta clase de Ofidio.

Es por eso que analizar las alteraciones del veneno de *Crotalus simus* en los animales ayuda al desarrollo de la medicina veterinaria de Nicaragua porque disminuye la tasa de mortalidad, mediante estrategias preventivas, nuevos anti venenos, entre otros.

1.5. Limitaciones

- Dificultad en adquirir el veneno de *Crotalus simus*
- Variabilidad de los efectos del veneno en los grupos de prueba
- Preocupaciones éticas con el uso de animales vivos
- Complejidad de la toxina
- Falta de datos epidemiológicos

1.6. Variables

La variable independiente es el Veneno de *Crotalus simus* porque se analizará sus efectos nocivos en los ratones, mientras que las dependientes son las Alteraciones hematológicas y Alteraciones histológicas, las cuales son producto de la independiente.

1.7. Supuestos Básicos

El veneno de *Crotalus simus* en ratones (*Mus musculus*) afecta las células y tejidos, provocando: inflamación, coagulación sanguínea, cambios en la presión arterial, insuficiencia renal, parálisis cerebral, debilidad muscular, inmunosupresión, cambios metabólicos, patología tisular, dolor persistente, problemas respiratorios y en el peor de los casos la muerte.

1.8. Categorías, temas y patrones emergentes de la investigación

La necesidad de analizar los efectos tóxicos del veneno de *Crotalus simus* en los animales ha propiciado que exista la categorización de esta clase de análisis por las distintas familias existentes de serpientes en el país, generando temas de interés como lo son las afectaciones de estos venenos en los seres humanos y animales. En esta investigación no se presentaron patrones emergentes.

1.9. Contexto de la Investigación

Según (MINSA/OPS, 2011, pág. 7) estipula que la incidencia de los accidentes ofídicos en Nicaragua por año es de:

año aproximadamente 600 casos de mordeduras de serpientes, los lugares de mayor cantidad de casos son Rio San Juan, Chontales, Matagalpa y Jinotega. Las personas más afectadas viven en el área rural, la gran mayoría de las mordeduras son provocados por las serpientes Barba amarilla y cascabel, en menor cantidad la serpiente coral.

CAPITULO II: PERSPECTIVA TEORICA

2.1. Estado del Arte

Las bases de datos científicas utilizadas fueron: Google académico, Redalyc y Scielo. En la primera base de datos, existen aproximadamente 23 resultados con un índice de citación entre las 0-5 veces, en cambio la segunda base de datos, presenta 10 resultados los cuales tienen entre 0-2 veces citados, mientras que, en la tercera base de datos, existen 5 investigaciones citadas entre 0-20 veces. En las tres bases de datos los tipos de investigaciones identificados fueron: Artículos de revisión y otros tipos de publicación.

Las principales teorías y aportes del tema de investigación fueron:

“Actualmente, el accidente ofídico es considerado un potencial riesgo a la salud pública, especialmente en regiones tropicales y subtropicales, donde se encuentran ambientes de hábitats ideales para la existencia de gran diversidad de ofidios venenosos” Lastra *et al.*, 2014 p.2.

“En Nicaragua, las serpientes de mayor importancia médica pertenecen a las familias *Elapidae* y *Viperidae*” (Acevedo y Chávez, 2014 p.6). “Siendo el 95% de los casos reportados, ocasionados por algunas especies pertenecientes a la familia *Viperidae*, como ser *Bothrops asper*, *Crotalus simus*, *Lachesis muta* y *Porthidium nasutum*” (Solís y Tinoco, 2014 p.9,14).

“Se denomina veneno a la secreción tóxica, viscosa y de color amarillo, que se produce y almacena en glándulas especializadas, conectadas a sus colmillos a través de ductos” (Chaves citado por Uribe, 2014 p.21).

2.2. Perspectiva Teórica Asumida

“Las serpientes constituyen un grupo de amniotas, con aproximadamente 3,100 especies distribuidas en todos los continentes, exceptuando la Antártida, siendo consideradas el segundo grupo más especioso de reptiles en la actualidad” (Uetz citado por Scanferla, 2010 p.3). “Cabe destacar que de esta gran diversidad solamente una sexta parte de ellas son venenosas” (Solís y Tinoco, 2014 p.7).

Tabla 1

Descripción taxonómica

	Taxonomía
Reino	<i>Animalia</i>
Subreino	<i>Metazoo</i>
División	<i>Chordata</i>
Subdivisión	<i>Vertebrata</i>
Superclase	<i>Tetrápoda</i>
Clase	<i>Reptilia</i>
Superorden:	<i>Lepidosauria</i>
Orden:	<i>Squamata</i>
Suborden:	<i>Serpentes</i>
Familia	<i>Viperidae</i>
	<i>Elapidae</i>
	<i>Hydrophinae</i>

Fuente: Aguinada *et al.* citado por Lara (2019 p.183).

“Este suborden representa uno de los grupos animales que más interés ha despertado en diversas culturas, desde la antigüedad hasta nuestros días” (Scanferla, 2010 p.2), “de tal manera que aún la ciencia moderna no ha escapado de este particular interés, siendo sus rasgos anatómicos y biológicos en general, motivo de especial atención y profundos estudios” (Scanferla, 2010 p.2).

“Actualmente, el accidente ofídico es considerado un potencial riesgo a la salud pública, especialmente en regiones tropicales y subtropicales, donde se encuentran ambientes de hábitats ideales para la existencia de gran diversidad de ofidios venenosos” Lastra *et al.*, 2014 p.2.

“Datos disponibles por la OMS muestran que entre 4,5 y 5,4 millones de personas son mordidas por serpientes cada año. De estos, 1,8-2,7 millones desarrollan complicaciones clínicas y 81.000 a 138.000 mueren” (OPS, 2022).

“En Nicaragua se calcula que cada año se producen aproximadamente 650 accidentes de pacientes mordidos por serpientes venenosas”. (Acevedo y Chávez, 2014 p.6). “Presentándose una mayor incidencia en los departamentos de Matagalpa, Jinotega, Chontales y Río San Juan” (Acevedo y Chávez, 2014 p.57).

“La cifra real de casos puede ser más alta, dado que esta patología adolece importantes problemas de subregistro” (Lomonte, 2012 p.86). “Estas estadísticas son resultado de datos recogidos en pacientes humanos, sin embargo, esta situación se extiende hasta la medicina veterinaria, pues tanto animales de producción como de compañía son víctimas de mordeduras de serpiente en el ámbito mundial” (Posada, 2015 p.151).

“La incidencia del envenenamiento por serpientes, varía entre regiones de un mismo país, dependiendo de diversos factores como el clima, los parámetros ecológicos, la biodiversidad, la densidad poblacional, las actividades económicas, etc.” (Castañeda *et al.*, 2016 p.101). “La herpetofauna del istmo centroamericano no sólo se considera muy abundante sino también diversificada, se estima que el suborden serpientes está representado regionalmente por no menos de 180 especies, agrupadas en cinco principales familias: *Boidae*, *Colubridae*, *Hidropidae*, *Elapidae* y *Viperidae*” (Acevedo y Chávez, 2014 p.14).

Tabla 2.

Número estimado de mordeduras por serpientes y especies de mayor relevancia médica a nivel centroamericano

País	Mordeduras por año	Especies más importantes
Belice	50	<i>Bothrops asper</i>
Costa Rica	500-600	<i>Bothrops asper</i> <i>Crotalus simus</i>
El Salvador	50	<i>Crotalus simus</i>
Guatemala	500	<i>Bothrops asper</i> <i>Crotalus simus</i>
Honduras	500	<i>Bothrops asper</i>
Nicaragua	600	<i>Bothrops asper</i> <i>Crotalus simus</i>
Panamá	1300-1800	<i>Bothrops asper</i>

Fuente: Modificado de Gutiérrez *et al.*, Sasa y Vásquez, citados por Gutiérrez (2011).

“En Nicaragua, las serpientes de mayor importancia médica pertenecen a las familias *Elapidae* y *Viperidae*” (Acevedo y Chávez, 2014 p.6). “Siendo el 95% de los casos reportados, ocasionados por algunas especies pertenecientes a la familia *Viperidae*, como ser *Bothrops asper*, *Crotalus simus*, *Lachesis muta* y *Porthidium nasutum*” (Solís y Tinoco, 2014 p.9,14).

“*Crotalus simus* ha sido reportada como una de las especies más letales a nivel latinoamericano” (Solano *et al.*, 2019 p.120), “y nacionalmente, ocupa el segundo lugar como causante de accidentes ofídicos” (MINSA, 2011 p.7).

“El género *Crotalus* incluye alrededor de 53 especies” (Solórzano, 2020), “las cuales son endémicas del continente americano, y están presentes desde el sudeste de Canadá hasta el norte de Argentina” (Posada, 2015 p.157).

De acuerdo a Castro *et al.*, (2013 p.2):

Anteriormente, las poblaciones solían clasificarse dentro del taxón *Crotalus durissus*, donde se incluían las serpientes de cascabel centroamericanas y sudamericanas, sin embargo, recientemente este fue dividido en tres especies, *C. totonacus*, del norte de México, *C. simus*, cubriendo poblaciones en México y Centroamérica, y *C. durissus* que incluye las poblaciones sudamericanas.

Por lo tanto, “*Crotalus simus* es reportada como la única especie de cascabel que habita en Centroamérica” (Vásquez y Avendaño, 2009 p.17.; Sunyer, 2014 p.197) “Distribuyéndose con frecuencia en tierras cálidas y en el bosque seco” (HerpetoNica, 2015 p.391), en zonas áridas, matorrales espinosos o sabanas secas. También han sido reportadas en bosques tropicales deciduos, bosques de pino, o zonas rodeadas de selva baja” (Semarnat, 2018 p.93). “En Nicaragua, ha sido capturada en la vertiente del Pacífico y en el borde lacustre de Boaco, Chontales y Estelí” (HerpetoNica, 2015 p.392).

“El nombre genérico de las serpientes de cascabel centroamericanas, hace referencia al propio cascabel, derivándose del griego *krotalon*, que significa cascabeleo o traqueteo” (Rubio citado por Villegas, 2017 p.33) y del “latín *simus* que significa nariz plana, y hace referencia a la forma de su cabeza” (Semarnat, 2018 p.91) (Anexo 1) “que se caracteriza por ser grande y triangular con un cuello bien marcado, y además por poseer foseta loreal, ojos con pupila vertical o elíptica y escamas aquilladas” (Vásquez y Avendaño, 2009 p.17).

La Guía Ilustrada de Anfibios y Reptiles de Nicaragua de HerpetoNica (2015 p.391), describe estos ejemplares de la siguiente manera:

Su color corporal es gris, con marcas romboidales oscuras bordeadas de blanco y un par de líneas oscuras ventrales. El color ventral es claro y amarillento en la cola.

“Es una serpiente de tamaño grande, ya que suele alcanzar una longitud máxima de 180 cm, sin embargo, en promedio los adultos oscilan entre 100 y 120 cm (Moya, 2019). “Esta especie se caracteriza por poseer cascabel, estructura epidérmica compuesta por eslabones interpuestos que se forman en cada muda. Contrario a la creencia popular ni la cantidad de eslabones, ni el tamaño del cascabel reflejan la edad de la serpiente” (Sasa *et al.*, 2019 p.53).

“Al pertenecer a la familia *Viperidae* este género posee fosetas loreales cuya función es termorreceptora y un aparato ponzoñoso bien desarrollado” (Vélez, 2016 p.19), “denominándose así, al conjunto de estructuras anatómicas relacionadas con la inoculación del veneno” (Brussel citado por Lara, 2019 p.308).

“Dicho aparato venenoso se considera el más evolucionado de los sistemas de inoculación. Sus colmillos son huecos, muy largos y gozan de mucha movilidad” (Bruni *et al.*, 2020 p.89) (Anexo 2). “Las mordeduras son rápidas y el veneno es inoculado profundamente en los tejidos, siendo comparadas con el alcance de penetración de una inyección intramuscular profunda” (Bruni *et al.*, 2020 p.89).

“Se denomina veneno a la secreción tóxica, viscosa y de color amarillo, que se produce y almacena en glándulas especializadas, conectadas a sus colmillos a través de ductos” (Chaves citado por Uribe, 2014 p.21). “El veneno constituye uno de los sistemas más sofisticados de defensa en el mundo natural, formado por mezclas complejas de polipéptidos y proteínas farmacológicamente activas” (Gallegos *et al.*, 2015 p.24), “que perturban los sistemas fisiológicos vitales, en especial aquellos relacionados con la circulación, el movimiento o la respiración” (Das *et al.*, Koh y Manjunatha citado por Coto, 2023 p.17).

“Atendiendo a criterios farmacocinéticos, sus componentes se pueden clasificar en toxinas o enzimas; las toxinas son abundantes en los elápidos, mientras que en los vipéridos predominan las enzimas” (Duque *et al.*, citado por Lara, 2019 p.211). “Lo

cual hace que los efectos de su veneno dependan más del tiempo que de la dosis inoculada” (Duque *et al.*, citado por Lara, 2019 p.212).

“La composición química de los venenos es altamente variable y puede estar determinada por factores filogenéticos, ontogénicos, geográficos, relacionados a la dieta e incluso el sexo” (Chippaux *et al.*, citado Gallegos *et al.*, 2015 p.24).

Mackessy citado por Chinchilla (2019 p.8), propone clasificar los venenos de las serpientes del género *Crotalus* según su composición, en tipo I y tipo II:

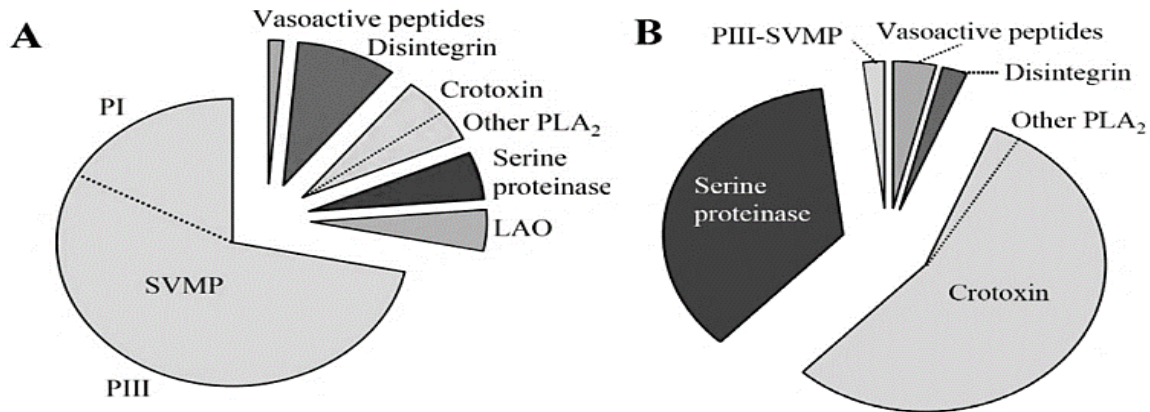
Venenos Tipo I: Son compuestos principalmente por metaloproteinasas (SVMPs), por lo que son principalmente hemorrágicos. Las serpientes con este tipo de veneno se distribuyen mayoritariamente en México y en parte de Centroamérica, como ser las *C. simus*, *C. atrox*, y *C. viridis*.

Venenos Tipo II: Contienen principalmente fosfolipasas (PLA₂), por lo que son neurotóxicos y de alta toxicidad. Estas serpientes se distribuyen mayoritariamente en Sudamérica, como las especies de *C. d. terrificus*, *C. d. collilineatus*, *C. d. cascavella*, *C. scutulatus* y *C. tigris*.

“Sin embargo, esta clasificación presenta limitaciones pues existen cascabeles que muestran fenotipos intermedios entre los tipos I y II” (Mackessy citado por Castro *et al.*, 2020 p.8) “y existen algunas especies que presentan variabilidad intraespecífica” (Chippaux *et al.*, citado por Gallegos *et al.*, 2015 p.62), “como es el caso de *C. simus* que presenta variaciones ontogénicas lo que implica que, los ejemplares juveniles posean veneno del tipo II y los adultos del tipo I” (Calvete citado por Chinchilla, 2019 p.9).

Figura 1.

Componentes del veneno de *C. simus*. Diferencias entre individuo A) Adulto, B) Juvenil



Fuente: Modificado de Calvete *et al.*, (2009 p.538).

“El veneno de las serpientes de cascabel se caracteriza por ser uno de los más complejos y por contener enzimas proteicas de mayor peso molecular” (Pirela citado por Gallegos *et al.*, 2015 p.25). “La composición del veneno de *C. simus* de México, Guatemala y Costa Rica se ha caracterizado biológica y bioquímicamente anteriormente” (Castro *et al.*, 2013 p.17), describiéndose el proteoma muestreado obtenido de individuos adultos en la Tabla 3.

Tabla 3

Composición del veneno de Crotalus simus, familias de enzimas proteicas y la proporción en qué se encuentran

Familia de proteínas	Proporción
Serina Proteinasas (SVSP)	(30.4%)
Metaloproteinasas (SVMP)	(27.4%)
Fosfolipasas A ₂ (PLA ₂)	(22.4%) (Crotoxina 14%)
Péptidos vasoactivos (PEP)	(6.5%)
L-aminoácido oxidasas (LAO)	(5.7%)
Desintegrinas (DIS)	(1.5%)
Desconocidos (UNK)	(2.9%)
Factor de crecimiento (NGF)	(1.1%)
Proteínas secretoras ricas en cistina (CRISP)	(1.0%)
Proteínas de tipo lectina tipo C (CTL)	(0.6%)
PDE	(0.5%)

Fuente: Modificado de Castro *et al.*, (2013 p.17).

“Se han aislado distintas serinas proteinasas (SVSPs) en el veneno de serpientes *Viperidaes*, que se consideran multifuncionales” (Matsui *et al.*, Barret y Rawlings citados por Roldán, 2019 p.11). “La mayoría de ellas, pertenecen a la serina proteinasas tipo trombina (SVSTLEs) y son clasificadas como enzimas coagulantes” (Roldán, 2019 p.12), “sin embargo también se encuentran algunas SVSPs tipo calicreína, que estimulan la bradiquinina y fomentan la presentación de hipotensión y otras activadoras del plasminógeno” (Chinchilla, 2019 p.4).

“De esta manera las SVSPs influyen en diferentes procesos como la agregación plaquetaria, la coagulación sanguínea, la fibrinólisis, los sistemas de complementos, la presión sanguínea e incluso alteran el sistema nervioso” (Panfoli y Manjunatha citados por Gallegos *et al.*, 2015 p.26).

“Las metaloproteinasas (SVMPs) dependientes de zinc presentes en el veneno, poseen efecto citotóxico en las células del endotelio e inhiben la coagulación sanguínea” (Panfoli y Manjunatha citados por Gallegos *et al.*, 2015 p.62). “De acuerdo a su composición, también son capaces de degradar el fibrinógeno o la fibrina” (Gutiérrez y Rucavado citados por Rengifo, 2017 p.8). “En su mayoría, estas degradan los componentes de la matriz extracelular hasta provocar el debilitamiento de los vasos sanguíneos, generando hemorragias locales o sistémicas” (Arnaud *et al.*, 2019 p.46).

“Las fosfolipasas A₂ son una de las principales responsables de la inflamación local y de los efectos hemolíticos, hemorrágicos, cardiotoxicos, miotóxicos, anticoagulantes, antiplaquetarios y neurotóxicos” (Panfoli y Manjunatha citados por Gallegos *et al.*, 2015 p.26). “Estas, junto con las SVMPs, inducen una patología tisular compleja y generalizada” (Roldán, 2019 p.16). “La crotoxina, es una PLA₂ neurotóxica compuesta por dos subunidades, una subunidad ácida que carece de actividad enzimática y toxicidad, y la subunidad básica que posee actividad enzimática fosfolipasa y tiene toxicidad” (Faure *et al.*, Gutiérrez *et al.*, citados por Castro *et al.*, 2020 p.2).

“Los efectos hemorrágicos, se relacionan también con las enzimas parecidas a la lectina tipo C, que presentan actividades como la inducción o inhibición de la agregación plaquetaria y de la coagulación mediante de su unión a distintos factores de coagulación” (Chinchilla, 2019 p.7).

Castro *et al.*, (2020 p.2) reportan las diferentes actividades tóxicas del veneno de *C. simus* y sus componentes, de la siguiente manera:

El veneno en ensayos in vitro, ha demostrado tener actividad procoagulante relacionada a la presencia de enzimas similares a la trombina; actividad hemorrágica atribuible en gran parte a las metaloproteinasas, y alta actividad letal principalmente asociada a la crotoxina, siendo esta una potente neurotoxina.

Tabla 4.

Resumen las principales enzimas y las actividades tóxicas que se le atribuyen

Enzimas	Características
Metaloproteinasas	Enzimas dependientes de Zn ⁺ . Degradan proteínas de la matriz extracelular y componentes del sistema hemostático. Efecto citotóxico en las células del endotelio. Son fibrinógenasas y algunas inhiben la coagulación sanguínea.
Fosfolipasas A ₂	Enzimas que hidrolizan glicerofosfolípidos. Responsables de la inflamación local. Inducen efectos neurotóxicos, cardiotoxicos, miotóxicos, hemolíticos, convulsivos, anticoagulantes, antiplaquetarios y daño tisular.
Serina Proteinasas	Afectan la agregación plaquetaria, coagulación sanguínea, fibrinólisis, presión sanguínea, sistema de complemento y el sistema nervioso.
L- Aminoácido Oxidasas	Afecta la hemostasia a través de la inhibición de la actividad de Factor X.
Proteínas Anticoagulantes No enzimáticas	Inhiben los procesos de coagulación por interacción directa con un factor de coagulación específico.
Lectinas Tipo-C	Aglutinación de glóbulos rojos y en ocasiones forman parte integral de proteínas procoagulantes como el activador Factor X, también actúa como subunidad reguladora.
Desintegrinas	Inhiben la agregación plaquetaria. Enlazan a las integrinas que se encuentran sobre la superficie de las células y actúan como inhibidores competitivos de sus ligandos de preferencia. Actúan como antagonistas de los receptores del fibrinógeno.
Hialuronidasa	Generan disminución de la viscosidad intersticial y difusión de los componentes del veneno (Mackessy <i>et al.</i> , 2008).

Fuente: Modificado de Gallegos *et al.*, (2015 p.26).

“La caracterización de las actividades tóxicas de los venenos de serpientes es estrictamente necesaria para el entendimiento de los procesos fisiopatológicos que se producen ante su mordedura” (Roodt *et al.*, citado por Lara, 2019 p.211).

Según Villena y Tamayo (2011 p.16), el cuadro clínico provocado por el veneno del género *Crotalus* según la gravedad del caso puede tener dos manifestaciones:

Un cuadro local que cursa con leve eritema, acompañado o no, de discreto edema y el cuadro sistémico que puede presentar diplopía, disminución de la agudeza visual, ptosis palpebral, mioglobinuria, trastornos de la coagulación sanguínea, parálisis respiratoria e insuficiencia renal aguda.

“Esta signología resulta de la combinación de los diferentes efectos producidos por los componentes del veneno, siendo evidente que predominan los efectos sistémicos sobre los locales” (Pirela *et al.*, citado por Gallegos *et al.*, 2015 p.27). “En casos moderados y severos, el veneno se distribuye a nivel sistémico causando lesiones en los capilares de distintos órganos” (Brenes, 2014 p.543).

En el análisis hematológico se manifiestan algunas alteraciones en el conteo de eritrocitos, leucocitos, plaquetas y factores de la coagulación según Posada (2015 p.158), que reporta en envenenamientos por *Crotalus spp.*:

Leucocitosis predominantemente en neutrófilos, sin reducción en el número de plaquetas y moderadas manifestaciones hemorrágicas. Sin embargo, no en todos los casos los parámetros hematológicos resultan estar alterados.

Rodríguez *et al.*, (2014 p.3-5) reportan las siguientes lesiones inducidas por el veneno de individuos del género *Crotalus* en el análisis histopatológico de tejido hepático, pulmonar y músculo esquelético en ratones *nmri*:

Hiperemia, hemorragia, edema, enfisema pulmonar, congestión del septum alveolar y trombosis intravascular. Observándose también, hepatocitos tumefactos, presencia de las células de Kupffer, focos de células inflamatorias y linfocitos.

“Sobre los efectos generados en el tejido renal, destaca la hemorragia, infiltrado inflamatorio, colapso de los túbulos contorneados e incluso la pérdida de la arquitectura glomerular y del órgano” (Olivera y Manzano, 2020 p.40).

“En el músculo cardiaco es posible encontrar áreas hiperémicas, congestión de los vasos sanguíneos, infiltración de células inflamatorias, indicios de necrosis hasta llegar a necrosis de Zenker” (Olivera y Manzano, 2020 p.39). Mientras que, “en el músculo esquelético se reportan áreas de hiperemia, infiltrado inflamatorio, hemorragia y necrosis de Zenker con ruptura de las fibras musculares” (Olivera y Manzano, 2020 p.38).

“En aquellos casos graves por mordeduras de serpientes, cuando otras características circunstanciales se vuelven imprecisas, destaca la necesidad de un análisis histopatológico y otros exámenes complementarios” (Satish *et al.*, 2021 p.1), “pues sus resultados son de inmensa ayuda al momento de establecer un diagnóstico definitivo” (Satish *et al.*, 2021 p.1).

CAPITULO III: DISEÑO METODOLOGICO

3.1 Tipo de Investigación

Esta investigación es de tipo transversal, descriptivo y experimental analítico con un enfoque mixto.

3.2. Área de estudio

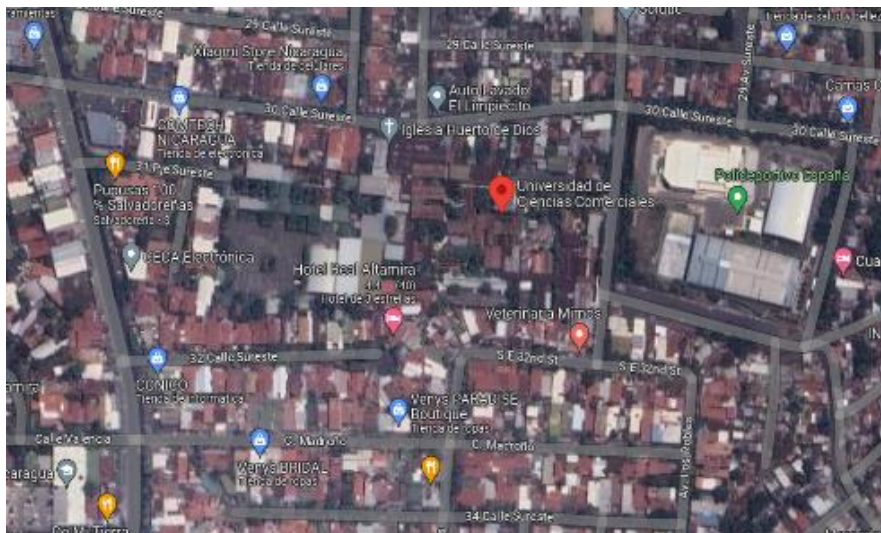
Se llevó a cabo en el Centro de Estudios, Diagnóstico e Investigaciones Veterinaria (CEDIVE) de la Universidad de Ciencias Comerciales, ubicado en la ciudad de Managua, con las siguientes coordenadas: “12.123278896827932 de latitud norte y -86.24988131151574 de longitud oeste” (Google Maps, s.f.).

Según la Alcaldía de Managua (ALMA) citada por Velásquez *et al.*, (2014), la ciudad de Managua se encuentra delimitada geográficamente de la siguiente manera:

Al norte con el Lago Xolotlán, al sur con el municipio El Crucero, y los municipios de Ticuantepe y Nindirí, al este con el municipio de Tipitapa, al oeste con los municipios de Ciudad Sandino y Villa Carlos Fonseca. Cuenta con un clima tropical de sabana, caracterizado por una prolongada estación seca y por temperaturas altas todo el año, que van desde 27° C. hasta 32°C. La precipitación anual promedio es de 1,125 milímetros de agua.

Figura 2.

Vista satelital de la Universidad de Ciencias Comerciales



Nota: Vista satelital de la Universidad de Ciencias Comerciales ubicada en la ciudad de Managua. Fuente: Tomado de Google Maps (s.f.)

3.3. Población/Muestra teórica y sujetos de estudio

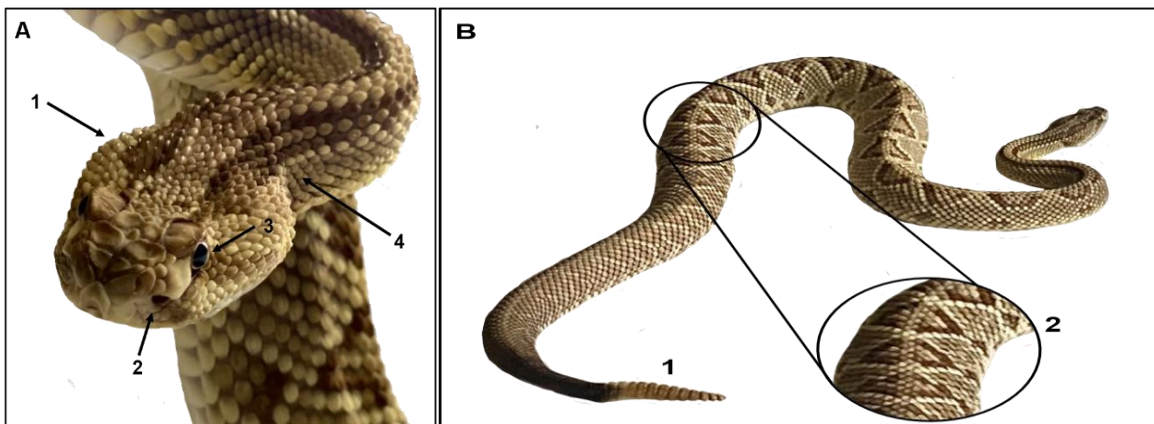
Criterios de Inclusión

- Ratones blancos aparentemente sanos, procedentes del bioterio de la Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua, UNAN León.
- Peso aproximado de 21-30 g.
- Sin distinción de sexo.
- Veneno procedente de *Crotalus simus*.

El veneno utilizado fue donado por el zocriadero Mascotas Escamosas, ubicado en Matagalpa, procedente de dos ejemplares adultos de *Crotalus simus* con una longitud de 100 cm y 140 cm respectivamente, cuyas características físicas coinciden con la descripción de la taxa para la especie, documentada por HerpetoNica (2015 p.391); Sasa *et al.*, (2019 p.53); Vásquez y Avendaño (2009 p.17) (Figura 3).

Figura 3

Características taxonómicas de Crotalus simus



Nota: (A) Cabeza triangular (Flecha 1), fosea loreal (Flecha 2), ojo con pupila elíptica (Flecha 3), cuello pronunciado (Flecha 4). (B) Cascabel (1), marcas romboidales oscuras bordeadas de blanco (2). Fuente: Autoría propia.

Fase Experimental

El veneno donado fue trasladado en hielera con gel refrigerante a una temperatura promedio de 6°C (Olivera y Manzano, 2020 p.36) a las instalaciones del CEDIVE en UCC-Managua, donde se llevó a cabo el procedimiento.

El estudio se realizó en un total de 12 ratones, divididos en tres grupos (G₁, G₂, G₃) de cuatro individuos, teniendo cada grupo su respectivo control. Los individuos control fueron inoculados con 0.1 ml de solución salina fisiológica estéril (SSI 0.9%) por vía intraperitoneal (IP), y el resto de los sujetos fueron inoculados con una dosis de 1.02 µg/g (Coto, 2023 p.41) de veneno de *C. simus* por vía intraperitoneal.

En primera instancia el veneno fue centrifugado a 1200 r.p.m. durante 15 minutos (Olivera y Manzano, 2020 p.36), desechando el sobrenadante y colectando el precipitado con la ayuda de una micropipeta (µl), obteniéndose 200 µl totales de veneno, que fueron diluidas en un volumen final de 100 ml, para llegar a la concentración de 0.02 µl/0.10ml.

Cálculo del requerimiento:

- *Requerimiento = Dosis de veneno * Peso vivo (ratones)*

Cálculo de la concentración:

- $$X = \frac{A * B}{C}$$

X= volumen a la concentración requerida; A= requerimiento o concentración deseada; B= volumen total del solvente; C= cantidad total de veneno disponible.

Cálculo del volumen a administrar

- $$\text{Volumen a administrar} = \frac{\text{Requerimiento}}{\text{Concentración}}$$

Todos los individuos sometidos al estudio fueron colocados en una cámara anestésica para su sedación con cloroformo al 4%, garantizando así el bienestar animal en cumplimiento con la sección VII, art. 42 y 43 de la Ley para la Protección y Bienestar Animal nicaragüense, que trata sobre los animales destinados a experimentación e investigación (LEY N°. 747, Art.42 y 43, 2011).

“Siendo el cloroformo clasificado como un depresor del sistema nervioso central, de acción rápida y duradera, que induce un plano anestésico fase III (quirúrgico) ya que genera mayor narcosis que otros gases” (Charles, 2011, INSHT, 2007 p.2). Fue administrado por vía inhalatoria por medio de cámara anestésica a una dosis de “0.15 ml/ 20g durante un periodo de exposición de 30 segundos” (Isea *et al.*, 2008 p.60), retirando al individuo una vez comprobado la pérdida del reflejo de enderezamiento y sensibilidad.

Posteriormente, los ratones fueron sacrificados mediante el método de dislocación cervical sugerido por Melgar *et al.*, (2015 p.62), en distintos tiempos post inoculación, el G₁ a una hora, el G₂ a las tres horas y el G₃ a las seis horas.

Inmediato al sacrificio se realizó la toma de muestra sanguínea por punción cardíaca (Olivera y Manzano, 2020 p.36). Posteriormente se efectuó la disección de los ratones según el método descrito por Morales Briceño *et al.*, (2018 p.57), para la obtención de muestra de tejido muscular (gastrocnemio) y tejidos viscerales (cerebro, pulmón, corazón, hígado, bazo y riñón).

Las muestras de sangre fueron procesadas dentro de las instalaciones del CEDIVE, mientras que las muestras de tejido muscular y visceral fueron remitidas en frascos con formalina al 10% (Olivera y Manzano, 2020 p.36) al Centro Veterinario de Investigación y Diagnóstico (CEVEDI) de la **UNAN-León** para su procesamiento.

3.4. Técnicas e Instrumentos de Recolección de datos

La información de los individuos fue plasmada en un formato donde se registraron datos como: el número de individuo, peso, protocolo de sedación, dosis de veneno inoculada, método de sacrificio y la hora en que se realizó cada procedimiento. Los resultados del análisis hematológico fueron registrados en hojas de Excel, mientras que el reporte de histopatología fue recibido en hojas de resultado oficiales del Centro Veterinario de Investigación y Diagnóstico (CEVEDI).

3.5. Confiabilidad y validez de instrumentos/Criterios de calidad:

La confiabilidad de y validez de instrumentos se basan en la evidencia presentada en los anexos, donde se presenta el proceso del análisis de los cambios inducidos por la inoculación del veneno de *Crotalus simus* en ratones (*Mus musculus*) en los diferentes tejidos.

3.6. Procesamiento de datos y análisis de la información

El análisis consistió en identificar y describir las alteraciones encontradas a nivel hematológico e histopatológico inducidas por la inoculación del veneno de *C. simus* en ratones *Mus Musculus*. Estos cambios fueron reportados de manera escrita y visual (fotografías), a partir de los resultados de laboratorio y las láminas de histopatología.

Materiales y equipos

- Frascos estériles
- Formalina 10%
- Cloroformo 4%
- Bisturís
- Bolsas plásticas
- Guantes
- Batas quirúrgicas
- Gorro quirúrgico
- Mascarillas quirúrgicas
- Tubos con EDTA
- Jeringas de 3ml
- Jeringas de 1ml
- Kit de disección
- Alcohol
- Agua destilada
- Solución Salina

- Contenedores de plástico
- Micropipetas
- Probeta graduada
- Viales de plástico
- Nebulizador

3.7. Operacionalización de Variables

Tabla 5

Tabla de variables

Objetivo	Variable	Indicador	Instrumento
Alteraciones hematológicas	Alteraciones cuantitativas:		Hemograma
	Eritrocitos	Normal: 7.1 - 9.5 x10 ⁶ /μl, Bajo: <7.1 x10 ⁶ /μl, Alto: >9.5 x10 ⁶ /μl	
	Hematocrito	Normal:37.4 - 51.7 %, Bajo: <37.4%, Alto: >51.7%	
	Hemoglobina	Normal: 11.6 -15.8(g/dL), Bajo: <11.6(g/dL), Alto: >15.8 (g/dL)	
	Leucocitos	Normal: 1.5 - 4.8 10x ³ /μl, Bajo: < 1.5 10x ³ /μl, Alto: > 4.8 10x ³ /μl	
	Neutrófilos	Normal: 0.22 - 1.09 10x ³ /μl, Bajo: < 0.22 10x ³ /μl, Alto: >1.09 10x ³ /μl	
	Eosinófilos	Normal 0 - 0.19 10x ³ /μl, Alto: >0.19 10x ³ /μl	
	Linfocitos	Normal: 1.28 - 3.26 10x ³ /μl, Bajo: <1.28 10x ³ /μl, Alto: >3.26 10x ³ /μl	
	Monocitos	Normal: 0 - 0.22 10x ³ /μl, Alto: >0.22 10x ³ /μl	
	Basófilos	Normal: 0 - 0.04 10x ³ /μl, Alto: >0.04 10x ³ /μl	
	Plaquetas		

Sólidos Totales	Normal: 325 - 888 (g/dL), Bajo: <325(g/dL), Alto: >888(g/dL)
Alteraciones cualitativas:	Normal: 4.5 – 5.8 (g/dL), Bajo: <4.5(g/dL), Alto: >5.8 (g/dL)
Plasma	<p>Plasma transparente: plasma claro, casi incoloro.</p> <p>Plasma icterico: plasma de color amarillento debido a altas concentraciones de bilirrubina.</p> <p>Plasma hemolizado: plasma de aspecto rojizo, indica la presencia de hemoglobina libre.</p>
Alteraciones de la serie roja	<p>Policromasia: eritrocitos de color rojo azulado en extendidos de sangre teñidos.</p> <p>Anisocitosis: variación en el diámetro de los eritrocitos.</p> <p>Poiquilocitosis: presencia de eritrocitos con formas anormales.</p> <p>Equinocitos: eritrocitos espiculados en los que sus espículas están espaciadas relativamente uniforme y son de tamaño similar.</p>

Acantocitos: eritrocitos con espículas espaciadas irregularmente y de tamaño variable.

Estomatocitos: eritrocitos que tienen áreas ovaladas o alargadas de palidez central.

Esquistocitos: fragmentos de eritrocitos con extremidades puntiagudas.

Excentrocitos: eritrocitos en los que la hemoglobina está localizada en una parte de la célula, dejando visible un área pobre en hemoglobina en su parte restante.

Dacriocitos: eritrocitos en forma de lágrima con extremidades únicas, alargadas o puntiagudas.

Eliptocitos: Eritrocitos con forma elíptica u ovalada.

Cuerpos de Howell-Jolly: pequeños restos nucleares esféricos.

Cuerpos de Heinz: agregados de hemoglobina precipitada oxidada, adheridos a las superficies internas de las membranas de los eritrocitos.

Serie Blanca

Rouleaux: agregaciones de eritrocitos agrupados en forma de pila de monedas.

Granulocitos inmaduros: constituyen una desviación a la izquierda que supone la presencia de neutrófilos en banda, metamielocitos, mielocitos y, muy raramente, promielocitos y mieloblastos.

Neutrófilo hipersegmentado: neutrófilos con cinco o más lóbulos nucleares.

Neutrófilo tóxico: se considera tóxico cuando presenta un citoplasma con basofilia aumentada, vacuolación espumosa, cuerpos de Döhle o gránulos citoplasmáticos que se tiñen de magenta.

Plaquetas

Linfocitos reactivos: linfocitos aumentados de tamaño con una mayor basofilia citoplasmática.

Macroplaquetas: plaquetas tan grandes como los eritrocitos o de mayor diámetro.

Agregación plaquetaria: puede ocurrir cuando las plaquetas se activan durante la recolección

de sangre, al transferir las muestras recolectadas al tubo con anticoagulante.

Nota: Variables en hematología. Fuente: Modificado de Harvey (2012 p.15, 59-209); Reagan *et al.*, (2019 p.45); Santos *et al.*, (2016 p.4).

Objetivo	Variable	Indicador	Instrumento
Alteraciones inducidas en tejido muscular y visceral.	Alteración en tejido muscular	Músculo: edema, degeneración celular, necrosis de Zenker e infiltrado de células inflamatorias y hemorragia.	Análisis histopatológicos
	Alteración en tejido visceral: Cerebro Pulmón Corazón Hígado Bazo Riñón	Cerebro: degeneración celular, necrosis neuronal y edema. Pulmón: hiperemia, enfisema, hemorragia y edema. Corazón: congestión, infiltrado inflamatorio, pérdida del núcleo de las células miocárdicas hasta llegar a necrosis de Zenker. Hígado: hepatocitos tumefactos, células inflamatorias, células de Kupffer y congestión.	

Bazo: reducción del número de células y atrofia.

Riñón: hemorragia, infiltrado inflamatorio.

Conceptos:

- Edema: acumulación de líquido en espacios intersticiales y cavidades.
- Degeneración: sucede cuando en la célula se vulneran los mecanismos homeostáticos de adaptación, se alcanza el estado de lesión celular.
- Necrosis: cambios morfológicos de una célula o tejido, que ocurren cuando el daño ha ido más allá del “punto de no retorno”, y provocan la muerte celular.
- Infiltrado Inflamatorio: acúmulo celular, constituido por distintas células inmunitarias.
- Hemorragia: extravasación sanguínea, consecuente a la ruptura de los vasos sanguíneos.

-
- Hiperemia: resultado del aumento de flujo sanguíneo local en tejidos específicos debido a la dilatación arterial.
 - Enfisema: distensión y ruptura de las paredes alveolares, formando burbujas de aire de tamaño variable en el parénquima pulmonar.
 - Congestión: es la ingurgitación pasiva de un lecho vascular generalmente causada por una disminución del flujo de salida con un flujo de entrada normal o aumentado de sangre.
 - Hepatocitos tumefactos: La célula se llena de agua y sufre cambio hidrópico por aumento en la permeabilidad de las membranas de las mitocondrias.
 - Células de Kupffer: fagocitos mononucleares propios del hígado.
 - Atrofia: es la disminución del tamaño de una célula, tejido u órgano después de haber alcanzado el crecimiento normal.
-

-
- Depleción: atrofia o lesión degenerativa célula.

Nota: Variables en histopatología reportadas con mayor frecuencia según diferentes autores. Fuente: Harvey (2012 p. 129); Hobbie *et al.*, (2023 p.2); López *et al.*, (2017 p.94,179,188); Portiansky *et al.*, (2019 p.6); Ramis y Pallarés (2019 p.2); Villalba y Vildoza (2014 p.82); Zachary y Donald (2012 p.83, 86, 30, 483).

CAPITULO IV: ANALISIS DE RESULTADOS

4.1. Alteraciones hematológicas inducidas por el veneno de *Crotalus simus*

4.1.1. Alteraciones cuantitativas

Tabla 6

Alteraciones cuantitativas del análisis hematológico de los diferentes grupos experimentales

Alteraciones	Grupo 1		Grupo 2		Grupo 3	
	Control	1 h post inoculación	Control	3 h post inoculación	Control	6 h post inoculación
Serie Roja						
Hematocrito	-	-	-	↓	-	-
Hemoglobina	-	-	-	-	-	-
Eritrocitos	-	↓	-	↓	↑.	↑
Sólidos plasmáticos totales	↑	↑	↑	↑	↑	↑
Serie Blanca						
Leucocitos	↑	↑	↑	↑	↑	↑
Neutrófilos	↑	↑	↑	↑	↑	↑
Eosinófilos	-	↑	-	-	-	-
Basófilos	-	-	-	-	-	↑
Linfocitos	↑	↑	↑	↑	-	↑
Monocitos	-	↑	-	-	-	-
Plaquetas	-	↑	-	↑	-	↑

Nota: Alteraciones cuantitativas de la serie roja y blanca en los diferentes grupos experimentales e individuos control, de acuerdo al tiempo de sacrificio post inoculación (↓ disminuido, ↑ aumentado, – sin alteraciones). Fuente: Autoría Propia

En las alteraciones cuantitativas de la serie roja, en el grupo uno (G₁) los individuos inoculados presentaron eritrocitopenia y sólidos plasmáticos totales (SPT) elevados, y en su control (C₁) únicamente se reportó SPT elevados. En el grupo dos (G₂), los individuos inoculados presentaron valores de hematocrito disminuidos, eritrocitopenia y SPT elevados, como en el caso anterior su control (C₂) solo

presentó SPT elevados. Y para el grupo tres (G₃), se reportaron tanto en los individuos inoculados como en su control (C₃), eritrocitosis y SPT elevados.

Las alteraciones en el hemograma son de origen multifactorial, siendo algunas, efecto directo de los componentes del veneno sobre las distintas poblaciones celulares, otras atribuidas a la respuesta orgánica generada ante estímulos estresantes o bien al proceso inflamatorio agudo desarrollado en el curso del envenenamiento, que genera mayores demandas tisulares y promueven cambios reactivos.

Las alteraciones del G₁ y G₂, eritrocitopenia y disminución del hematocrito, de acuerdo a (Ricciardi, 2020 p.74) son asociadas a la hemólisis producida por la actividad de la lisolecitina, liberada por las fosfolipasas A₂, al actuar sobre los fosfolípidos de las membranas eritrocitarias. Gallegos *et al.*, (2015 p.26) indica que un alto contenido de fosfolipasas A₂ ha sido demostrado en la caracterización del veneno de *Crotalus spp.*, las cuales son responsables de generar una gran variedad de efectos, donde destaca su acción hemolítica.

Para el G₃, las alteraciones encontradas fueron diferentes, tanto en los individuos inoculados como en su control (C₃), se reporta eritrocitosis y SPT elevados. Estos cambios según Gallo (2014 p.63) son asociados a una eritrocitosis relativa ligada a deshidratación y a su vez, a una redistribución eritrocitaria mediada por catecolaminas, en respuesta a estímulos estresantes. De la misma manera, esta alteración se encuentra relacionada con una “eritrocitosis secundarias, por un estímulo excesivo de la eritropoyesis, generalmente mediado por un aumento en los niveles de eritropoyetina, en respuesta a mayores demandas tisulares” (Montes *et al.*, 2012 p.1191).

En las alteraciones de la serie blanca, los individuos inoculados del G₁ presentaron leucocitosis, neutrofilia, eosinofilia, linfocitosis, monocitosis y trombocitosis, y en su control (C₁) leucocitosis, neutrofilia y linfocitosis. Para los individuos inoculados del G₂, se reportó leucocitosis, neutrofilia, linfocitosis y trombocitosis, y en su control (C₂) leucocitosis, neutrofilia y linfocitosis. En el G₃, se encontró leucocitosis,

neutrofilia, basofilia, linfocitosis y trombocitosis, y en su control (C₃) leucocitosis y neutrofilia.

Algunos de estos hallazgos coinciden con los resultados de Hideaki *et al.*, (2022 p.22), en el estudio de los cambios inducidos por el veneno de *Crotalus durissus fabrificus* inoculado en ratas, donde reporta leucocitosis y neutrofilia, sin embargo, a diferencia de esta investigación no reporta alteración en el conteo de eritrocitos o plaquetas. De la misma manera, Posada, (2015 p.158), reporta en el envenenamiento por serpientes del género *Crotalus* en perros y gatos, las mismas alteraciones en leucocitos.

Las alteraciones en el leucograma de los individuos inoculados son atribuibles a una “respuesta inflamatoria sistémica y aguda inducida por los componentes del veneno” (Aroch *et al.*, y Goddard *et al.*, citados por Schoeman y Goddard, 2013), “que implica mayores demandas tisulares y provoca una granulopoyesis medular acelerada” (Harvey, 2012 p.137; Sanz, 2016 p.22). Estas alteraciones también se encuentran relacionadas “a un leucograma de estrés transitorio” (Del Rosario y Gutiérrez Millón, 2019 p.5).

En el caso de los individuos control las alteraciones en la leucograma son únicamente asociadas a un “estímulo estresante de carácter agudo” (Del Río, 2020), atribuido a la manipulación de los animales durante el ensayo que generó alteraciones relacionadas a un “leucograma de estrés fisiológico y transitorio” (Suiza Vet, 2014).

La trombocitosis mostrada en los grupos inoculados, según Gallo (2014 p.103) es propia de una trombocitosis reactiva en respuesta a la hemorragia generada por la acción de las metaloproteinasas (SVMPs), “que degradan los componentes de los vasos sanguíneos hasta ocasionar su ruptura” (Sánchez *et al.*, 2017).

4.1.2. Alteraciones cualitativas

Tabla 7

Alteraciones cualitativas del análisis hematológico de los diferentes grupos experimentales

Alteraciones	Grupo 1		Grupo 2		Grupo 3	
	Control	1 h post inoculación	Control	3 h post inoculación	Control	6 h post inoculación
Serie Roja						
Plasma icterico		X		X		X
Plasma hemolizado				X		
Poiquilocitosis		X		X		X
Anisocitosis	X		X	X	X	X
Policromasia	X	X	X	X	X	X
Anisocromía		X		X		X
Células diana				X	X	X
Dacriocitos				X		X
Equinocitos tipo I		X	X	X	X	X
Equinocitos tipo II		X		X		X
Esferocitos						X
Cuerpos Howell-Jolly	X	X	X	X	X	X
Rouleaux				X		X
Serie Blanca						
Mieloblastos						X
Mielocitos				X		X
Metamielocitos				X		
Neutrófilos con granulaciones tóxicas		X		X		X
Neutrófilos con núcleo en forma de anillo		X		X		X
Macroplaquetas						X
Agregaciones plaquetarias	X		X	X	X	
Linfocitos reactivos	X	X	X	X		X

Nota: Alteraciones cualitativas de la serie roja y blanca en el extendido periférico, de los diferentes grupos experimentales e individuos control, de acuerdo al tiempo de sacrificio post inoculación (X alterado). Fuente: Autoría propia.

En las alteraciones cualitativas de la serie roja los individuos inoculados del G₁ presentaron plasma ictérico, poiquilocitosis, policromasia, anisocromía, equinocitos tipo I y II y cuerpos de Howell- Jolly, y en su control (C₁) únicamente anisocitosis, policromasia y cuerpos de Howell- Jolly.

Para el G₂, se evidenció plasma ictérico, poiquilocitosis, anisocitosis, policromasia, anisocromía, células diana, dacriocitos, equinocitos tipo I y II, cuerpos de Howell- Jolly y rouleaux; su control (C₂) presentó anisocitosis, policromasia, equinocitos tipo I y cuerpos de Howell- Jolly.

Los individuos inoculados del G₃ presentaron plasma ictérico, poiquilocitosis, anisocitosis, policromasia, anisocromía, células diana, dacriocitos, equinocitos tipo I y tipo II, esferocitos, cuerpos de Howell-Jolly y rouleaux, y en su control (C₃) se reportó anisocitosis, policromasia, células diana, equinocitos tipo I y cuerpos de Howell-Jolly.

Algunos cambios morfológicos reportados, como la equinocitosis transitoria y la presencia de esferocitos concuerdan con la bibliografía documentada por Schoeman y Goddard (2013) quienes consideran estas alteraciones indicativas de un envenenamiento severo por *Crotalus spp.* De la misma manera, reportan que las variaciones en el contenido hemoglobínico de los eritrocitos son resultado de la hemólisis intravascular generada por el veneno.

Las variaciones presentes en el extendido sanguíneo de los grupos inoculados son producto del efecto de los componentes del veneno en el organismo, a través de dos mecanismos: el primero, por la acción directa de dichos componentes sobre las poblaciones celulares, y el segundo, por el proceso inflamatorio agudo desarrollado, que cursa con un aumento de las demandas tisulares que generan cambios reactivos celulares.

Se reporta plasma ictérico en los individuos inoculados, anomalía que se atribuye a la manifestación de una “ictericia por alteración hepática, originada por la sobreproducción de bilirrubina resultante de la hemólisis brusca e intensa, generada

por las PLA₂, que lleva a una sobrecarga funcional hepática y es mantenida por el daño en los hepatocitos” (Ricciardi, 2020 p.17; Sousa y Araújo, 2022 p.1).

Dentro de las alteraciones morfológicas eritrocitarias inducidas por “la acción de las fosfolipasas A₂ sobre las membranas celulares” (Ricciardi, 2020 p.17), se encuentran la poiquilocitosis, los dacriocitos, los equinocitos tipo II y los esferocitos.

La poiquilocitosis y los dacriocitos son considerados “un hallazgo frecuente en desórdenes que inducen fragmentación eritrocítica” (Harvey, 2012 p.104; Reagan *et al.*, 2019 p.23), “y son sugerentes a una producción y maduración medular de células sanguíneas anormal o defectuosa, en respuesta a mayores demandas tisulares” (Del Rosario y Gutiérrez Millón, 2019 p.5; Diccionario Médico, 2023). De la misma manera, los equinocitos de tipo II y los esferocitos son consideradas “alteraciones frecuentes en envenenamientos provocados por el género *Crotalus spp*” (Schoeman y Goddard, 2013).

El hallazgo de rouleaux según Harvey (2012 p.59) depende de la presencia de eritrocitos alterados y de elevadas concentraciones de fibrinógeno; “las fosfolipasas A₂ del veneno han demostrado alterar las membranas celulares eritrocitarias y las serinas proteinasas tipo trombina poseen la capacidad de activar el fibrinógeno y aumentar sus concentraciones en el plasma sanguíneo” (Ricciardi, 2020 p.165; Roldán, 2019 p.12; Ruiz *et al.*, 2017 p.464), favoreciendo de esta manera la aparición de rouleaux.

“La lisis eritrocitaria y la hemorragia mediada por la acción de las PLA₂ y las SVMPS” (Vélez, 2016 p.30) contribuyen a la pérdida del hierro intracelular, lo que explicaría la anisocromía en los individuos inoculados. Esta alteración es definida como “una falta de consistencia en la coloración de los eritrocitos, producto de una fluctuación en su contenido hemoglobínico” (Gallo, 2014 p.199; Pereyra, 2019 p.44).

Tanto en los individuos inoculados como en los controles, fueron reportados algunos hallazgos que, según Reagan *et al.*, (2019 p.22) son considerados artefactos, como los equinocitos tipo I que suelen ser resultado de la crenación del eritrocito durante la preparación del frotis y las células diana que en realidad son policromatófilos que

adoptan esta apariencia. También se considera un artefacto, el plasma hemolizado reportado en uno de los individuos del G₂, que “es un efecto preanalítico y su aparición está relacionada con la técnica de extracción empleada o la preparación de la muestra” (Espejo, 2018).

Otros hallazgos encontrados en los grupos experimentales como la anisocitosis y la policromasia son considerados “cambios sin relevancia clínica en los roedores, por la corta vida media de sus eritrocitos. De la misma manera, también es común observar cuerpos de Howell-Jolly en los eritrocitos de los ratones” (Fox, 2007 p.143).

En las alteraciones cualitativas de la serie blanca los individuos inoculados del G₁ presentaron neutrófilos con granulaciones tóxicas, neutrófilos con núcleo en forma de anillo y linfocitos reactivos; en su control (C₁) agregaciones plaquetarias y linfocitos reactivos.

Para el G₂ en los individuos inoculados se encontraron mielocitos, metamielocitos, neutrófilos con granulaciones tóxicas, neutrófilos con núcleo en forma de anillo, agregaciones plaquetarias y linfocitos reactivos; en su control (C₂) agregaciones plaquetarias y linfocitos reactivos.

En los individuos inoculados del G₃ se reportaron mieloblastos, mielocitos, neutrófilos con granulaciones tóxicas, neutrófilos con núcleo en forma de anillo, macroplaquetas y linfocitos reactivos; en su control (C₃) únicamente agregaciones plaquetarias.

La presencia de mieloblastos, metamielocitos y mielocitos en el extendido sanguíneo de los individuos inoculados supone una “desviación a la izquierda regenerativa y es consecuente a un aumento en el reclutamiento medular de granulocitos, debido a mayores necesidades orgánicas estimuladas por el proceso inflamatorio en curso” (Pérez *et al.*, 2012; Reagan *et al.*, 2019 p.45).

“La presencia de neutrófilos con granulaciones tóxicas y con núcleo en forma de anillo son también un hallazgo indicativo de inflamación y daño tóxico” (Harvey,

2012 p.137; Sanz, 2016 p.22). Estas alteraciones ponen en manifiesto la respuesta inflamatoria sistémica generada ante los distintos componentes del veneno.

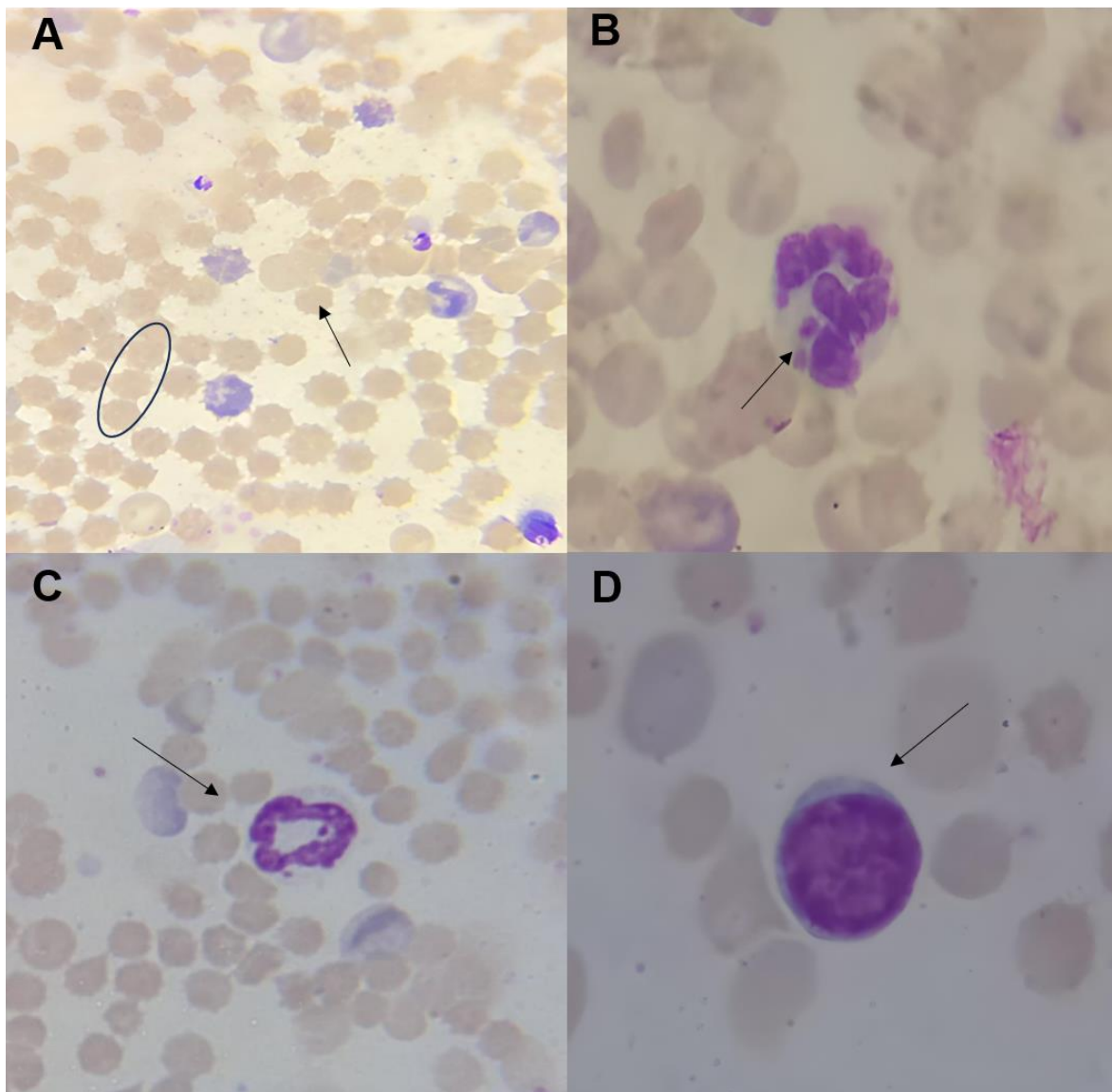
Los linfocitos reactivos en los individuos control, son asociados a una “linfocitosis benigna ligada a estrés transitorio” (Teggatz *et al.*, citado por Hamad y Mangla, 2023). Sumado a ello, en los individuos inoculados este hallazgo también es “producto de la estimulación antigénica” (Gallo, 2014 p.96) generada ante las proteínas presentes en el veneno.

La aparición de macroplaquetas en los individuos inoculados del G₃, se atribuye a “una marcada trombopoyesis activa” (Cowell *et al.*, citados por Morales, 2023 p.29), que se da en respuesta a la hemorragia generada por las SVMPS del veneno (Sánchez *et al.*, 2017 p.2).

Mientras que, los agregados plaquetarios encontrados en algunos individuos inoculados e individuos control, fueron considerados “artefactos que se dan por la activación y agregación plaquetaria durante el proceso de extracción de sangre” (Satue *et al.*, citado por Morales, 2023 p.30).

Figura 4

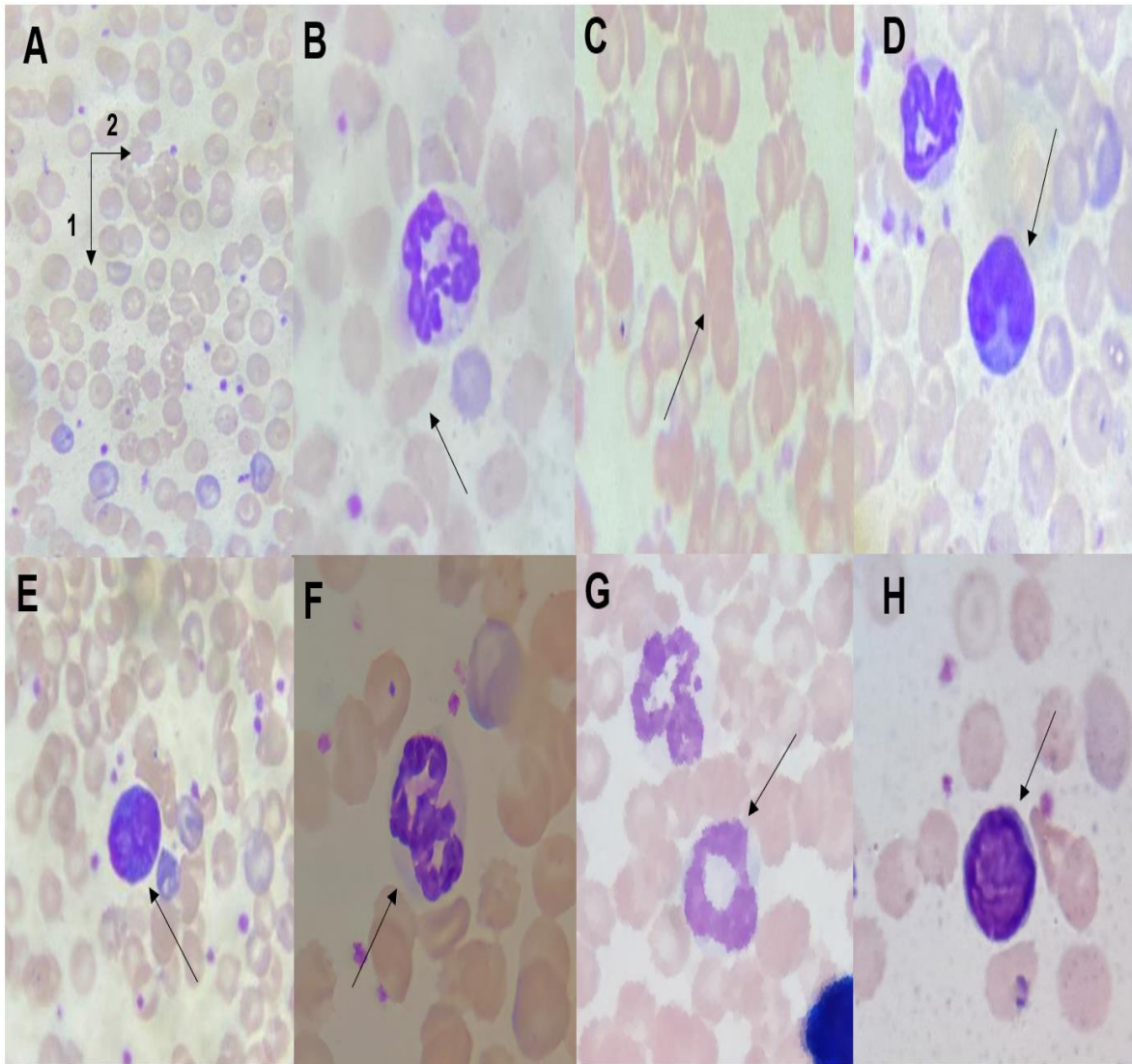
Alteraciones morfológicas encontradas en hematología del G₁, una hora post inoculación



Nota: (A) Equinocito tipo I (Flecha), Equinocito tipo II (○). (B) Neutrófilo con granulaciones tóxicas. (C) Neutrófilo con núcleo en forma de anillo. (D) Linfocito reactivo. Fuente: Autoría propia

Figura 5

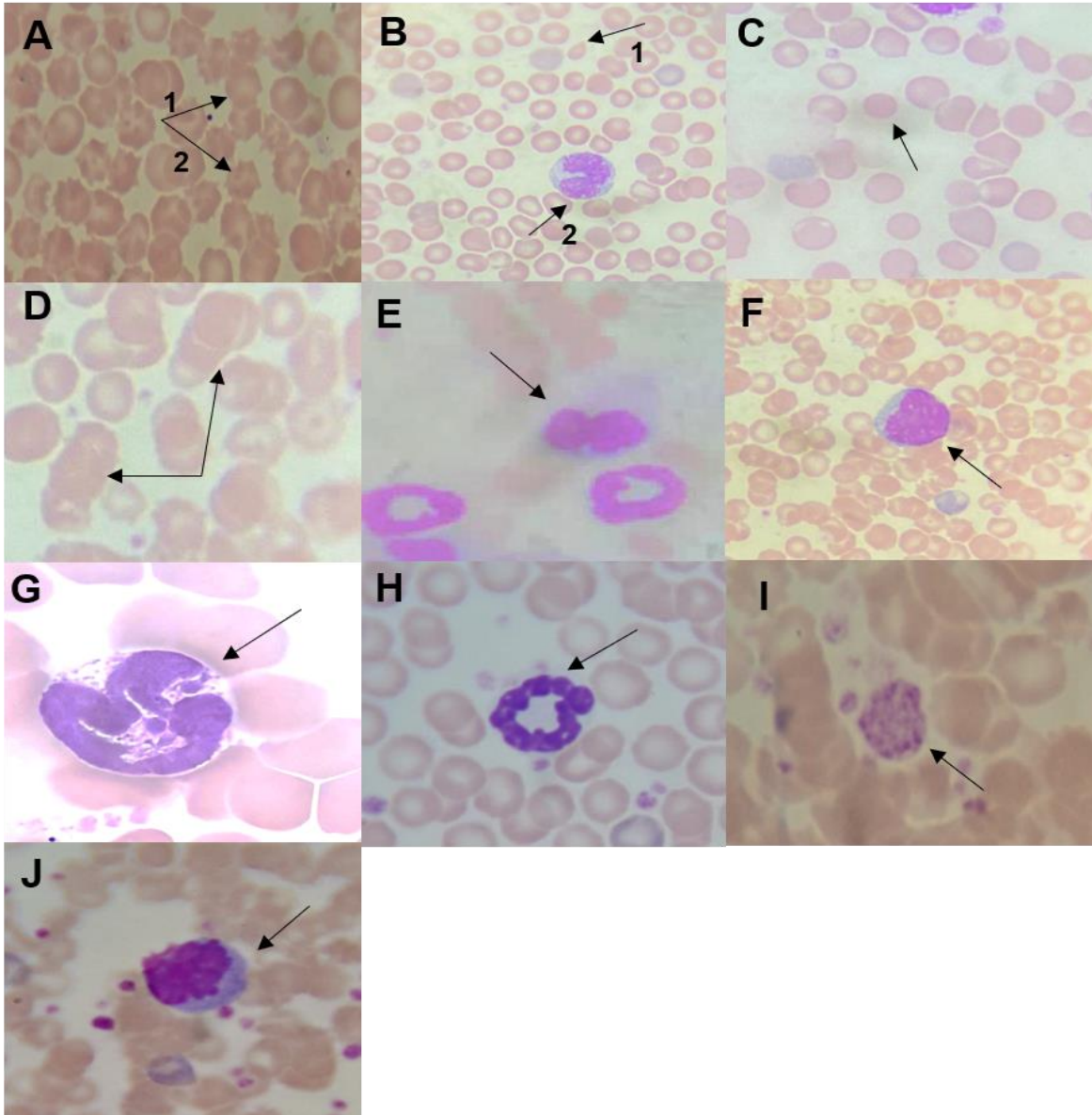
Alteraciones morfológicas encontradas en hematología en el G₂, tres horas post inoculación



Nota: (A) Equinocito tipo I (Flecha 1), Equinocito tipo II (Flecha 2). (B) Dacriocito. (C) Rouleaux. (D) Mielocito. (E) Metamielocito. (F) Neutrófilo con granulaciones tóxicas. (G) Neutrófilo con núcleo en anillo. (H) Linfocito reactivo. Fuente: Autoría propia.

Figura 6

Alteraciones morfológicas encontradas en hematología en el G₃, seis horas post inoculación



Nota: (A) Equinocito tipo I (Flecha 1), equinocito tipo II (Flecha 2). (B) Dacriocito (Flecha 1), neutrófilo con vacuolización (Flecha 2). (C) Esferocito. (D) Rouleaux. (E) Mielocito. (F) Mieloblasto. (G) Neutrófilo con granulaciones tóxicas. (H) Neutrófilo con núcleo en forma de anillo. (I) Macroplaqueta. (J) Linfocito reactivo.
Fuente: Autoría propia.

4.2. Alteraciones histológicas en tejido muscular y visceral inducidas por el veneno de *Crotalus simus*.

Tabla 8

Alteraciones histológicas en tejido muscular encontradas en el grupo uno (G₁)

Tejido Muscular	Alteraciones				
	Hemorragia	Edema	Infiltrado inflamatorio	Congestión	Degeneración celular
Control 1					
1 hora post inoculación	X	X	X	X	

Nota: Alteraciones histológicas encontradas en tejido muscular del grupo uno (G₁). Fuente: Autoría propia.

Tabla 9

Alteraciones histológicas en tejido visceral encontradas en el grupo uno (G₁)

Tejido Visceral		Alteraciones								
		Hemorragia	Edema	Infiltrado inflamatorio	Enfise- ma	Congestión	Degeneración celular	Aumento de la pulpa roja	Depleción de la pulpa roja	Dilatación
Control 1	Cerebro					X				
	Pulmón									
	Corazón					X				
	Hígado					X				
	Bazo									
	Riñón					X				
1 hora post inoculación	Cerebro		X			X				
	Pulmón				X	X				
	Corazón					X				
	Hígado	X				X				
	Bazo		X			X		X		
	Riñón	X				X				X

Nota: Alteraciones histológicas encontradas en tejido muscular del grupo uno (G₁). Fuente: Autoría propia.

Tabla 10*Alteraciones histológicas en tejido muscular encontradas en el grupo dos (G₂)*

Tejido Muscular	Alteraciones				
	Hemorragia	Edema	Infiltrado inflamatorio	Congestión	Degeneración celular
Control 2					
3 horas post inoculación		X	X		

Nota: Alteraciones histológicas encontradas en tejido muscular del grupo dos (G₂). Fuente: Autoría propia.

Tabla 11*Alteraciones histológicas en tejido visceral encontradas en el grupo dos (G₂)*

Tejido Visceral		Alteraciones								
		Hemorragia	Edema	Infiltrado inflamatorio	Enfise- ma	Congestión	Degeneración celular	Aumento de la pulpa roja	Depleción de la pulpa roja	Dilatación
Control 2	Cerebro									
	Pulmón									
	Corazón					X				
	Hígado					X				
	Bazo									
	Riñón					X				
3 horas post inoculación	Cerebro		X			X				
	Pulmón	X			X	X				
	Corazón	X				X				
	Hígado					X	X			
	Bazo								X	
	Riñón	X				X				

Nota: Alteraciones histológicas encontradas en tejido visceral del grupo dos (G₂). Fuente: Autoría propia

Tabla 12

Tejido Muscular	Alteraciones				
	Hemorragia	Edema	Infiltrado inflamatorio	Congestión	Degeneración celular
Control 3					
6 horas post inoculación		X	X		

Alteraciones histológicas en tejido muscular encontradas en el grupo tres (G₃)

Nota: Alteraciones histológicas encontradas en tejido muscular del grupo tres (G₃). Fuente: Autoría propia.

Tabla 13

Alteraciones histológicas en tejido y visceral encontradas en el grupo tres (G₃)

Tejido visceral		Alteraciones								
		Hemorragia	Edema	Infiltrado inflamatorio	Enfise- ma	Congestión	Degeneración celular	Aumento de la pulpa roja	Depleción de la pulpa roja	Dilatación
Control 3	Cerebro									
	Pulmón									
	Corazón					X				
	Hígado					X				
	Bazo					X				
6 horas post inoculación	Riñón									
	Cerebro		X			X				
	Pulmón			X	X	X				
	Corazón	X				X				
	Hígado					X	X			
	Bazo			X					X	
Riñón			X		X					

Nota: Alteraciones histológicas encontradas en tejido visceral del grupo tres (G₃). Fuente: Autoría propia.

“La compleja composición química de los venenos induce una amplia gama de alteraciones fisiopatológicas en los diferentes tejidos” (Olivera y Manzano, 2020 p.35), “donde predominan por lo general, los efectos sistémicos sobre las lesiones locales” (Pirela *et al.*, citado por Gallegos *et al.*, 2015 p.25).

Las alteraciones histológicas encontradas en los diferentes tejidos de G₁, fueron:

- Tejido Muscular: hemorragia, edema, infiltrado inflamatorio y congestión.
- Tejido Visceral: cerebro: edema y congestión; pulmón: enfisema y congestión; corazón: congestión; hígado: hemorragia y congestión; bazo: edema, congestión y aumento de la pulpa roja; riñón: hemorragia, congestión, y dilatación del espacio urinífero.
- Alteraciones del individuo control (C₁): cerebro: congestión; corazón: congestión; hígado: congestión; riñón: congestión.

Para el G₂, las alteraciones histológicas encontradas fueron:

- Tejido Muscular: edema e infiltrado inflamatorio.
- Tejido Visceral: cerebro: edema y congestión; pulmón: hemorragia, enfisema y congestión; corazón: hemorragia y congestión; hígado: congestión y degeneración celular; bazo: depleción de la pulpa roja; riñón: hemorragia y congestión.
- Alteraciones del individuo control (C₂): corazón: congestión; hígado: congestión; riñón: congestión.

En el G₃, los individuos presentaron las siguientes alteraciones histológicas:

- Tejido Muscular: edema e infiltrado inflamatorio.
- Tejido Visceral: cerebro: edema y congestión; pulmón: infiltrado inflamatorio, enfisema y congestión; corazón: hemorragia y congestión; hígado: congestión y degeneración celular; bazo: infiltrado inflamatorio y depleción de la pulpa roja; riñón: infiltrado inflamatorio y congestión.
- Alteraciones del individuo control (C₃): corazón: congestión; hígado: congestión; bazo: congestión.

Debido a las escasas investigaciones sobre lesiones histopatológicas inducidas por el veneno de la cascabel centroamericana (*Crotalus simus*), se procedió a la comparación con reportes en especies del mismo género, donde se describen alteraciones que coinciden con las descritas en este estudio.

Olivera y Manzano (2020 p.33), estudiaron las lesiones inducidas por el veneno de *Crotalus durissus cumanensis* en músculo, corazón, hígado y riñón, reportando:

En tejido cardíaco hiperemia, congestión y necrosis de Zenker; en músculo esquelético hiperemia, infiltrado inflamatorio y necrosis de Zenker; en hígado hemorragia, congestión, telangiectasia e infiltrado inflamatorio y en riñón hemorragia, infiltrado inflamatorio y colapso de los túbulos hasta la pérdida de la arquitectura del órgano.

De la misma manera Rodríguez *et al.*, (2014 p.3-6) en la evaluación histopatológica de las alteraciones en hígado, pulmón y músculo esquelético inducidas por el veneno de *Crotalus durissus cumanensis* y *Crotalus durissus vegrandis*, reportan:

En hígado, hepatocitos tumefactos, presencia de células de Kupffer e hiperemia; en pulmón hiperemia, enfisema, hemorragia y edema; en músculo, edema, degeneración y necrosis de Zenker e infiltrado inflamatorio.

La hemorragia presente en distintos órganos de los individuos inoculados, es ocasionada por “la acción de las hemorraginas sobre la microvasculatura” (ICP, 2016 p.14). Siendo éstas según Roldán (2019 p.14), metaloproteinasas dependientes de Zinc responsables del efecto hemorrágico, al degradar los componentes de la membrana basal hasta causar la disrupción de las paredes de los vasos sanguíneos que permite la extravasación de eritrocitos.

El efecto hemorrágico de las SVMPs es potenciado por la actividad de las hialuronidasas (SVHAs) que “además de ser un factor de dispersión para los distintos componentes del veneno, altera la integridad estructural de la matriz extracelular, mediante la degradación del ácido hialurónico” (Girish *et al.*, citados por Roldán, 2019 p.16).

El edema que se presenta consecuente a la acción de los componentes del veneno, según Vélez (2016 p.36), es originado por:

Los disturbios en la microvasculatura, ocasionados por la acción de las hemorraginas y a su vez por la liberación y síntesis de mediadores inflamatorios que inducen un incremento en la permeabilidad vascular.

Una respuesta inflamatoria caracterizada por “la formación de edema y la migración leucocitaria” (León *et al.*, 2015), es evidente en los individuos inoculados y es consecuente al efecto proinflamatorio del veneno, el cual según Uribe (2014 p.31) estimula numerosos mediadores inflamatorios como las prostaglandinas, leucotrienos, óxido nítrico, etc., que interactúan de manera compleja y desencadenan múltiples procesos celulares y tisulares.

El enfisema pulmonar reportado en los individuos inoculados del G₂ y G₃, se relaciona al proceso inflamatorio severo desencadenado ante el ingreso de los componentes del veneno. Además, “este hallazgo, se atribuye a la actividad de las PLA₂, SVMPs, SVSPs y las L- aminoácido oxidasa (LAAOs), que tienen la capacidad de alterar la integridad de las distintas membranas celulares, causando así daño tisular” (Figueiredo *et al.*, 2023 p.2).

Se reporta congestión en los grupos experimentales, hallazgo que se define según Zachary y Donald (2012 p.83) como:

Una ingurgitación pasiva de un lecho vascular, causada generalmente por una disminución en el flujo de salida sanguíneo, con un flujo de entrada normal, que puede ocurrir de forma aguda. Se acompaña de un aumento del volumen sanguíneo y de la presión arterial que genera una dilatación capilar y la consiguiente extravasación.

En los individuos control la aparición de esta alteración está asociada al método de sacrificio empleado, el cual “no implicó un proceso de desangrado, lo que produce la congestión de algunos órganos” (Necropsia en Mamíferos, 2016 p.2).

Sumado a ello, este hallazgo en los individuos inoculados es asociado a las alteraciones en la microvasculatura y membranas celulares provocadas por la acción de los componentes del veneno y la respuesta inflamatoria en curso. “En dependencia de la gravedad de la lesión al endotelio vascular, se acompaña de edema o hemorragia de diferentes grados” (Zachary y Donald, 2012 p.167), como se observa en el reporte de algunos órganos.

También se evidenció degeneración celular hepática en los individuos inoculados del G₂ y G₃, considerada según Zachary y Donald (2012 p.410) un cambio zonal ligado a la congestión hepática que produce hipoxia, consecuente a la estasis de la sangre. De igual manera, en este proceso degenerativo influye la acción de las PLA₂ que “afectan directamente la integridad de diferentes tipos celulares, al hidrolizar los fosfolípidos de sus membranas plasmáticas” (Chinchilla, 2019 p.3), permitiendo así que el agua ingrese en grandes cantidades al interior de la célula y altere su estructura.

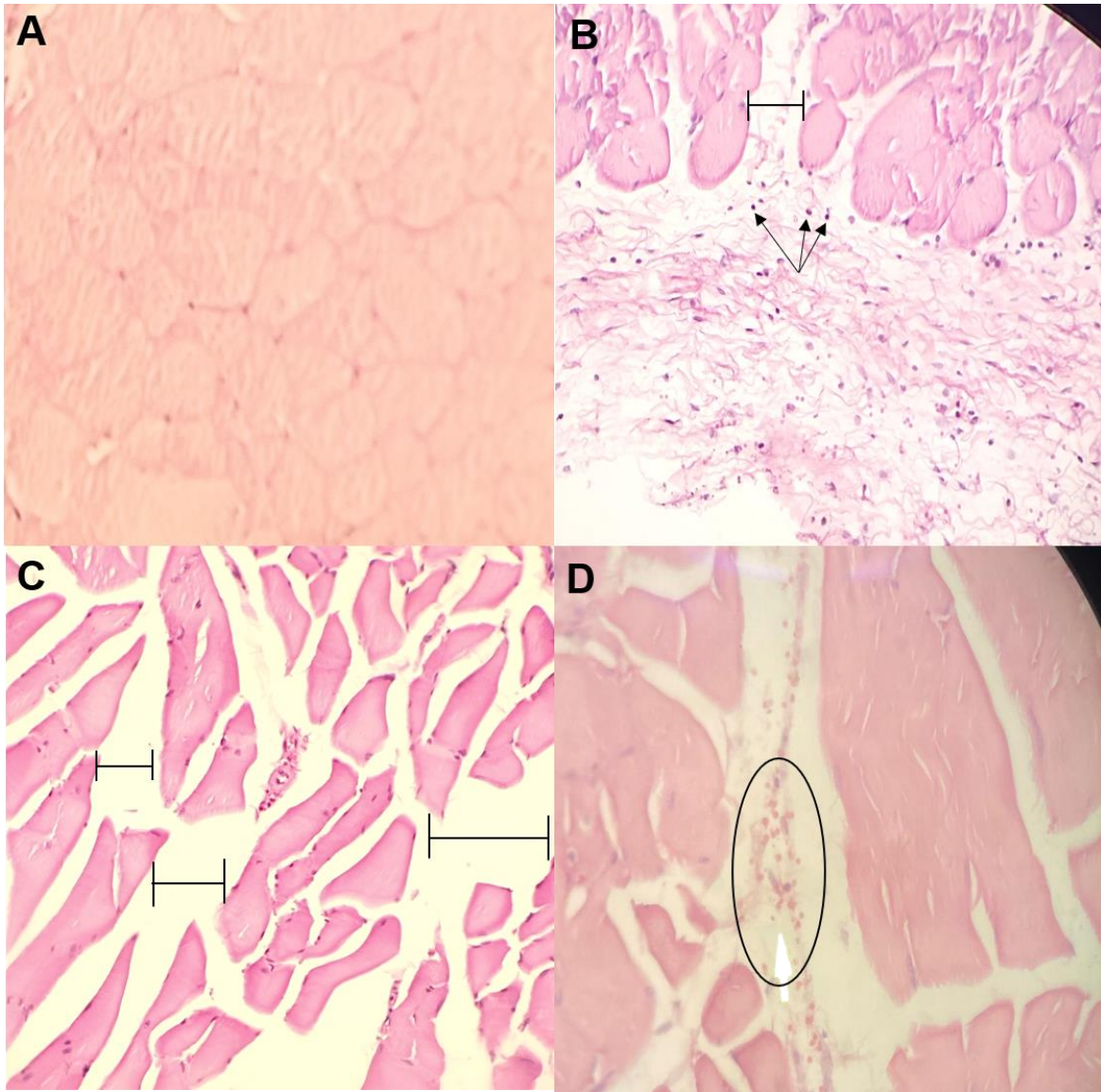
En los individuos inoculados del G₁, se reporta el aumento de la pulpa roja, hallazgo que se relaciona con “un proceso activo de hematopoyesis extramedular” (Dolian, 2018 p.7) originada por una elevada demanda de células sanguíneas, consecuente a la hemólisis y hemorragia ocasionada por la actividad de las PLA₂ y SVMPS presentes en el veneno.

Caso contrario, los individuos inoculados del G₂ y G₃, presentan depleción de la pulpa roja, considerada por (Hobbie *et al.*, (2023 p.2) como una atrofia o lesión degenerativa caracterizada por un descenso en la cantidad relativa de sus componentes, incluyendo las células hematopoyéticas, esta degeneración se encuentra asociada al efecto citotóxico de los componentes del veneno.

Además, se reporta dilatación del espacio urinífero, catalogado como un tipo de lesión renal aguda de origen multifactorial, que según Uribe (2014 p.54) puede ser secundaria a disturbios cardiovasculares, como hemólisis o coagulopatías, que conduzcan a una hipoperfusión renal, así mismo, es consecuente al efecto citotóxico de algunos componentes del veneno que alteran la estructura orgánica.

Figura 7

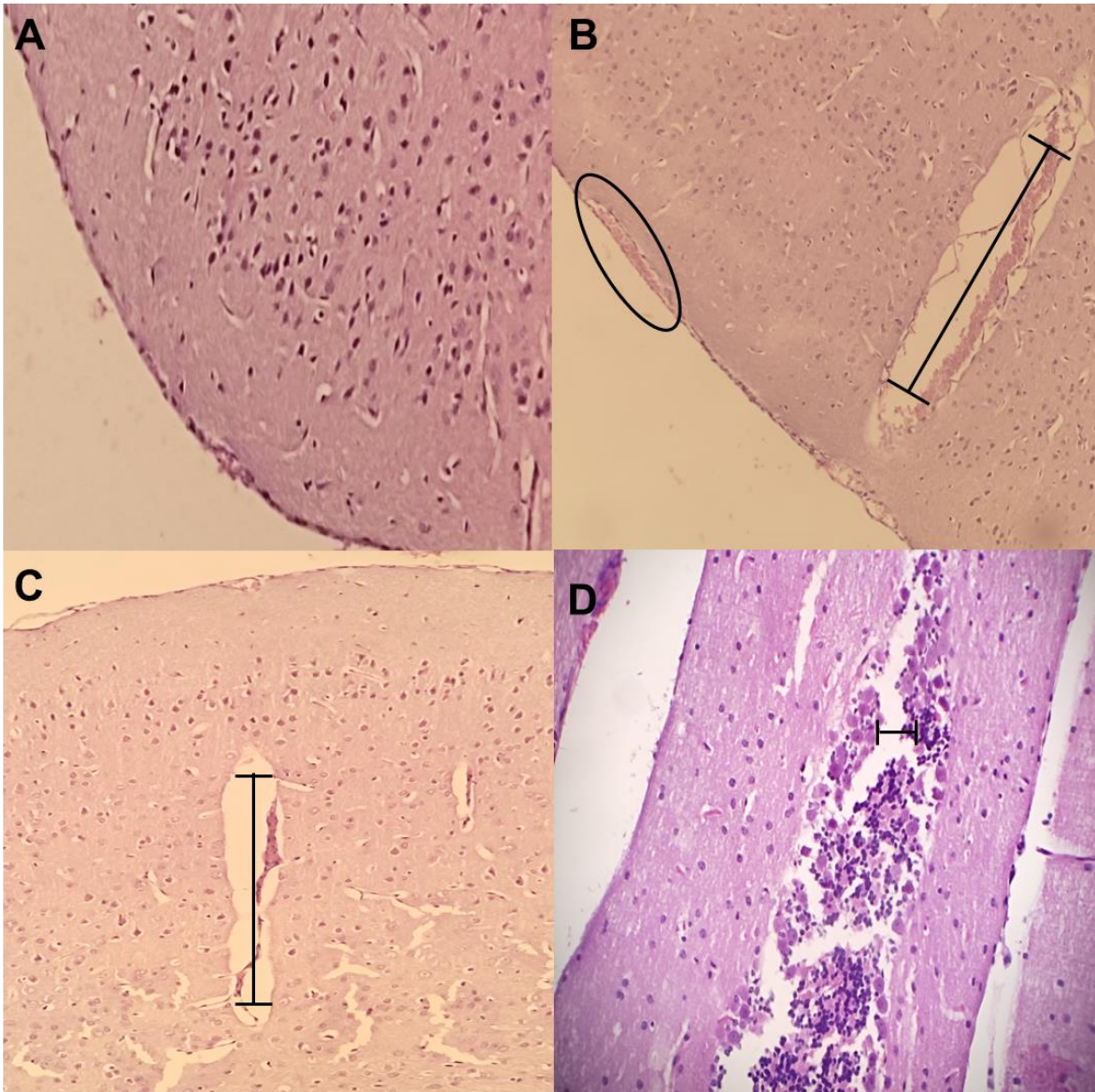
Alteraciones histológicas encontradas en tejido muscular



Nota: (A) Tejido muscular sin alteración. (B) Edema (—) e infiltrado inflamatorio (↑). (C) Edema (|—|). (D) Hemorragia (○). Fuente: Autoría propia.

Figura 8

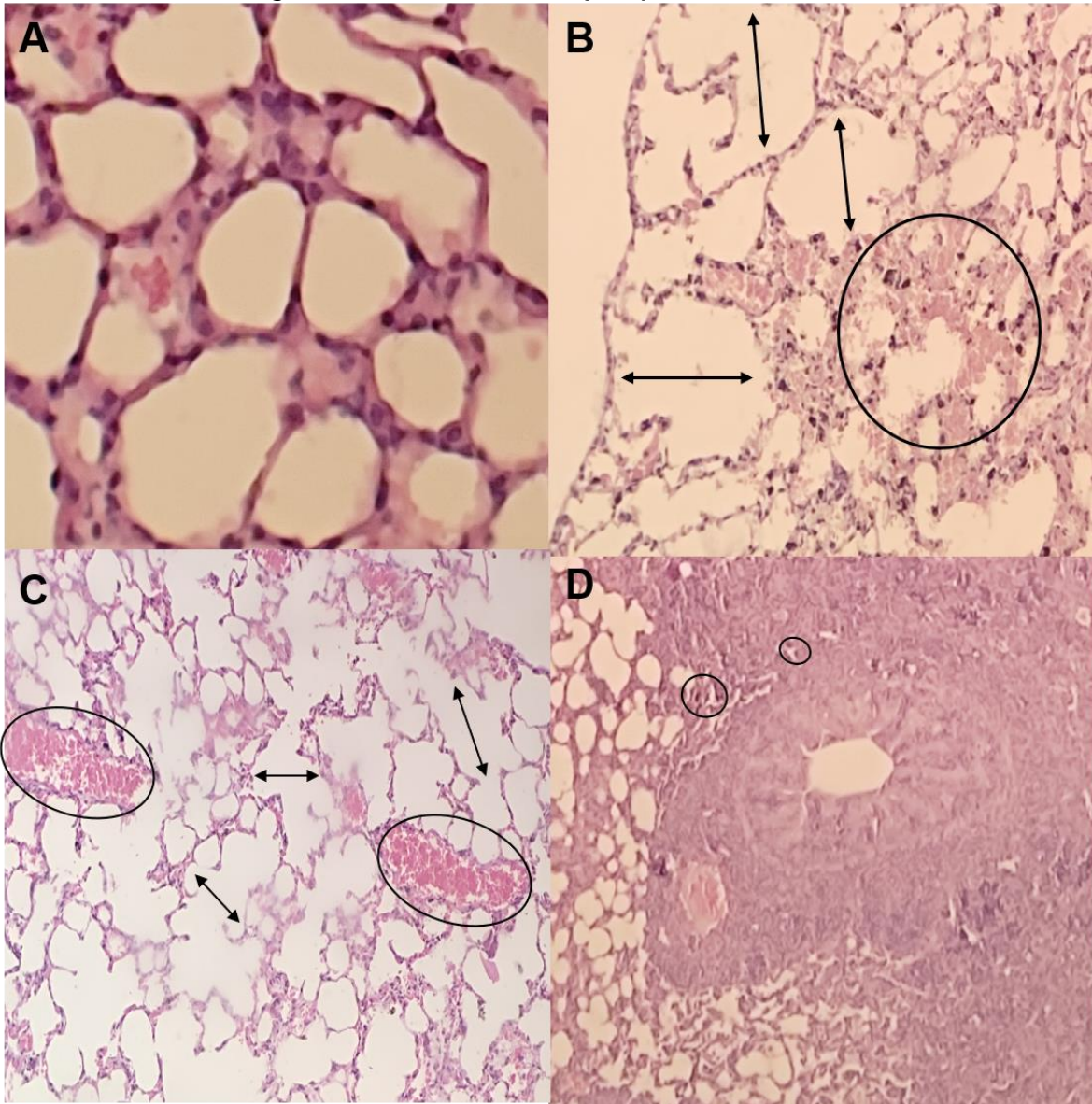
Alteraciones histológicas encontradas en tejido encefálico



Nota: (A) Tejido encefálico sin alteración. (B) Congestión meníngea (○) y edema perivascular (|——|). (C) Edema perivascular (|——|). (D) Edema en sustancia blanca (|——|). Fuente: Autoría propia.

Figura 9

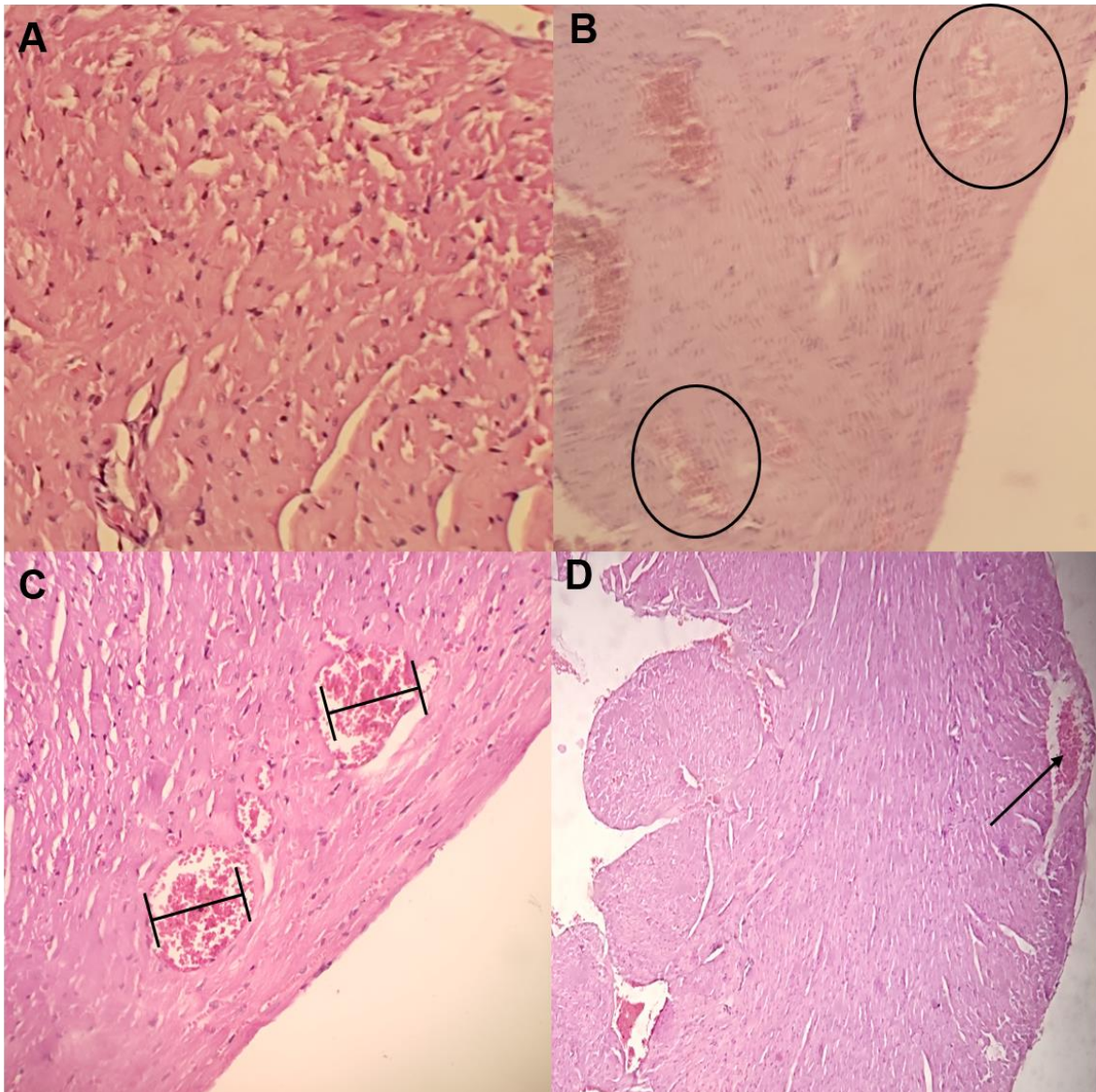
Alteraciones histológicas encontradas en tejido pulmonar



Nota: (A) Tejido pulmonar sin alteración. (B) Enfisema (\longleftrightarrow), hemorragia (\bigcirc). (C) Congestión (\bigcirc) enfisema (\longleftrightarrow). (D) Infiltrado inflamatorio (\bigcirc). Fuente: Autoría propia.

Figura 10

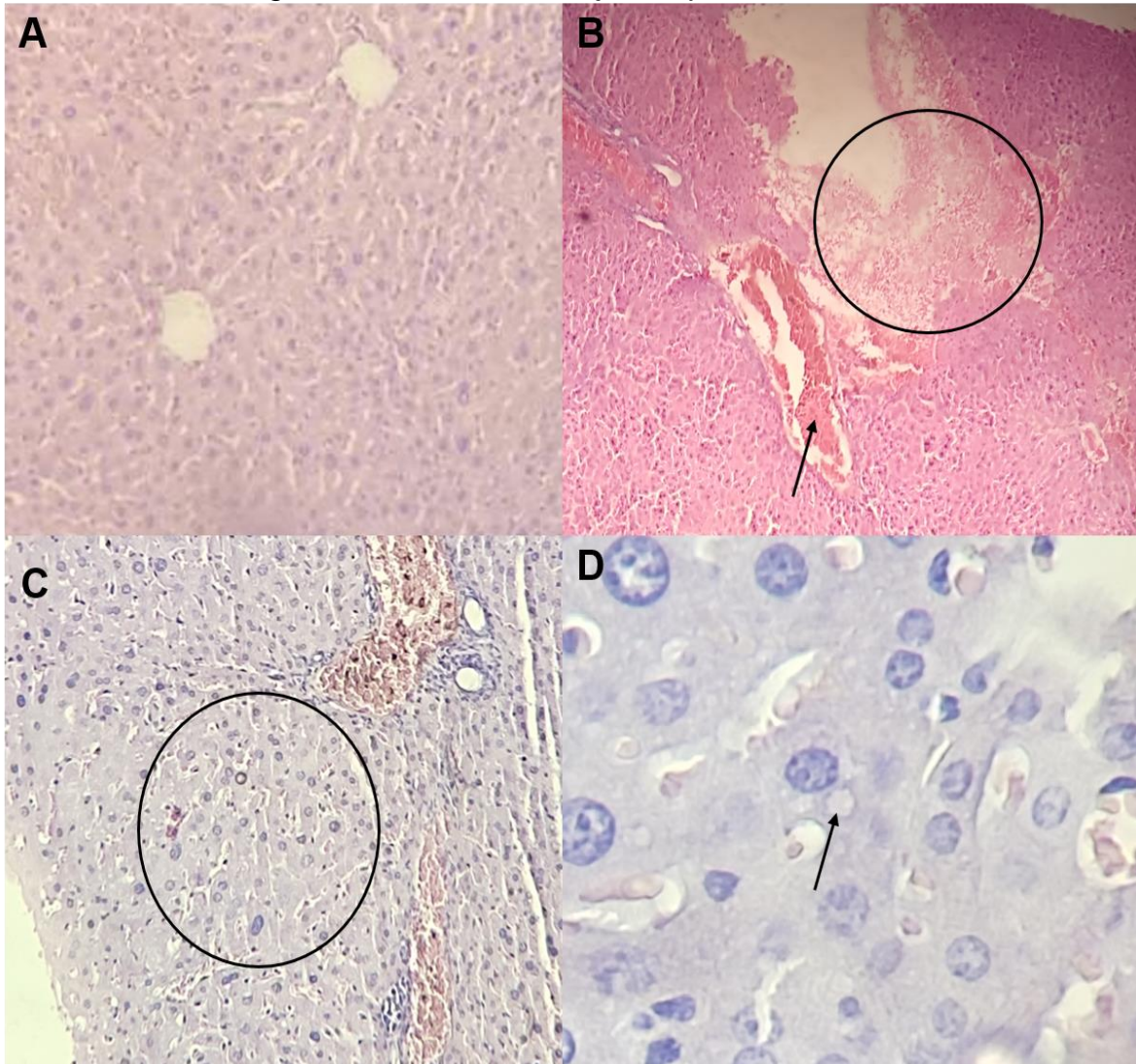
Alteraciones histológicas encontradas en tejido cardíaco



Nota: (A) Tejido cardíaco sin alteración. (B) Hemorragia (○). (C) Congestión en miocardio (—). (D) Congestión en pericardio (↑). Fuente: Autoría propia.

Figura 11

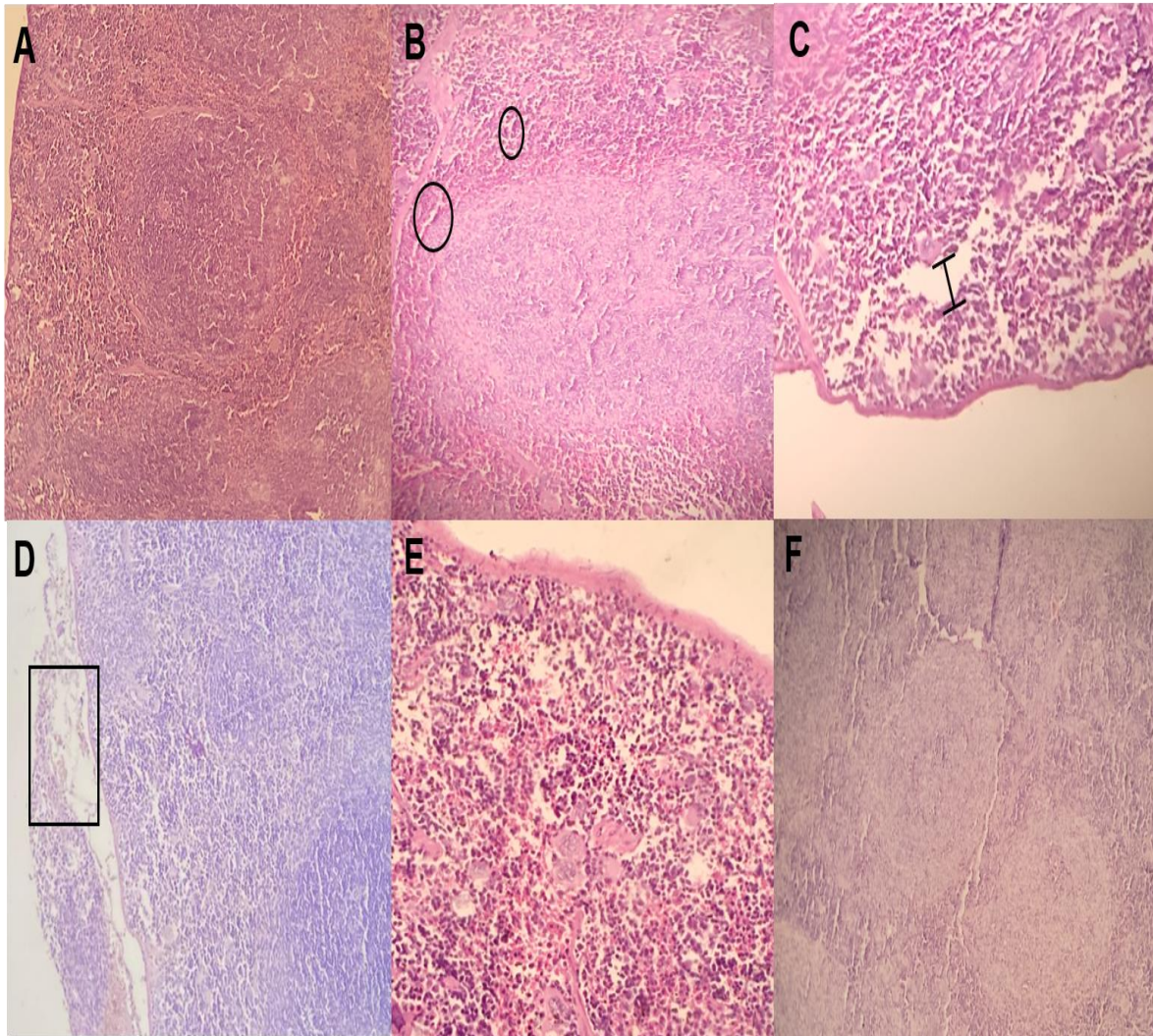
Alteraciones histológicas encontradas en tejido hepático



Nota: (A) tejido hepático sin alteración. (B) hemorragia (○) y congestión (↑). (C) degeneración de hepatocitos (○). (D) vacuolización citoplasmática (↑). Fuente: Autoría propia.

Figura 12

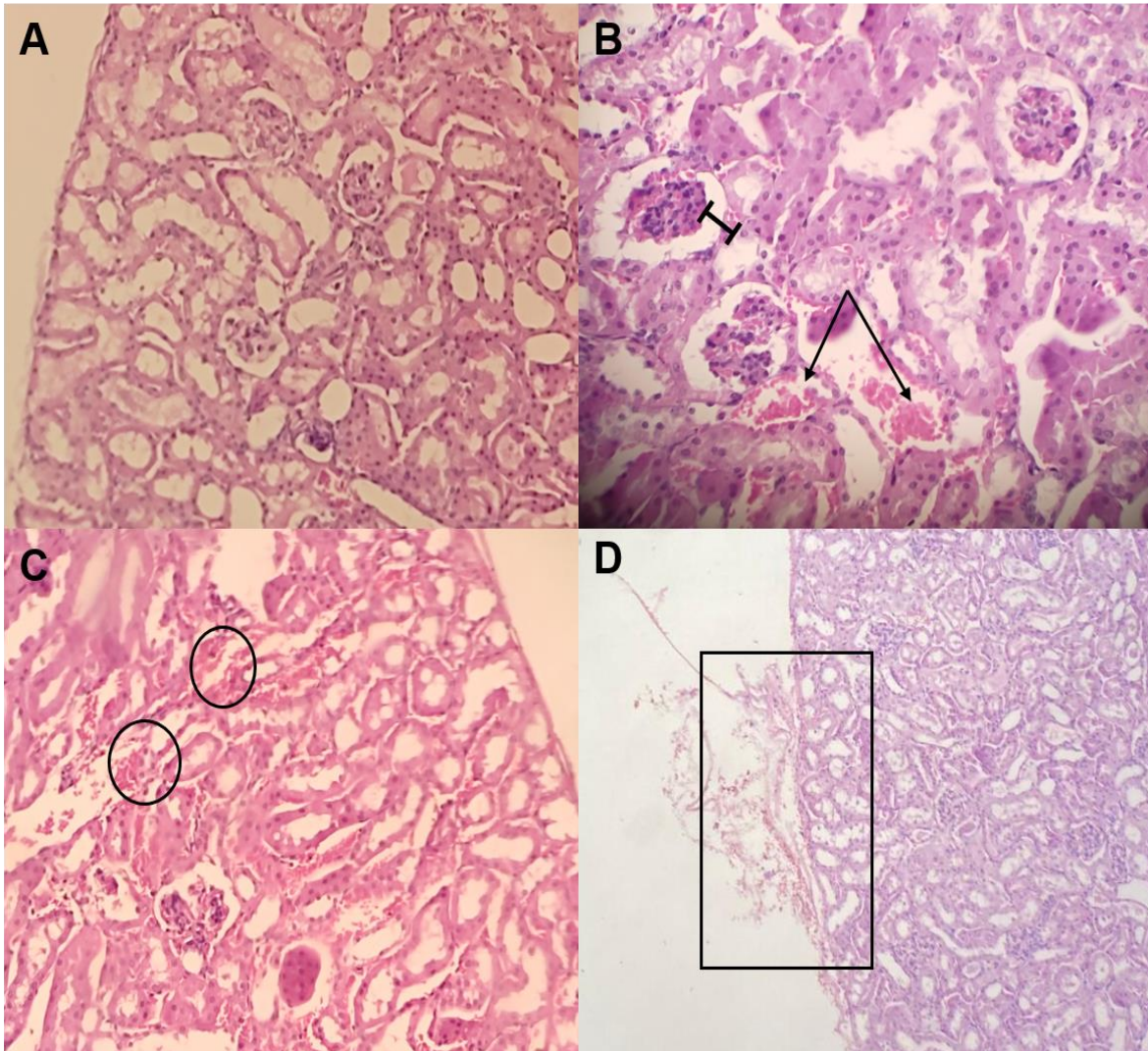
Alteraciones histológicas encontradas en tejido esplénico



Nota: (A) Tejido esplénico sin alteración. (B) Congestión (○). (C) Edema (—). (D) Infiltrado inflamatorio en la cápsula del bazo (□). (E) Aumento de la pulpa roja. (F) Depleción de la pulpa roja. Fuente: Autoría propia.

Figura 13

Alteraciones histológicas encontradas en tejido renal



Nota: (A) Tejido renal sin alteración. (B) Aumento del espacio urinífero (|——|) y congestión(↑). (C) Hemorragia (○). (D) Infiltrado inflamatorio (□). Fuente: Autoría propia.

CAPITULO V: CONCLUSIONES

A través de las lesiones reportadas en esta investigación es posible inferir que el veneno de *Crotalus simus* presente en Nicaragua, además de producir cambios de manera directa por la acción de sus componentes proteicos, induce alteraciones secundarias al proceso inflamatorio y a mecanismos compensatorios desarrollados por el organismo durante el envenenamiento.

En hematología, en los individuos inoculados se encontraron las siguientes alteraciones:

- En el G₁, eritrocitopenia, SPT elevados, leucocitosis, neutrofilia, eosinofilia, linfocitosis, monocitosis, trombocitosis, plasma icterico, anisocromía, poiquilocitosis, equinocitosis tipo I y II, cuerpos de Howell-Jolly, neutrófilos con granulaciones tóxicas y con núcleo en forma de anillo y linfocitos reactivos.
- En el G₂, hematocrito disminuido, eritrocitopenia, SPT elevados, leucocitosis, neutrofilia, linfocitosis, trombocitosis, plasma icterico y hemolizado, anisocromía, poiquilocitosis, anisocitosis, células diana, esferocitos, dacriocitos, cuerpos de Howell-Jolly, rouleaux, metamielocitos y mielocitos, neutrófilos con granulaciones tóxicas y núcleo en forma de anillo y linfocitos reactivos.
- En el G₃, eritrocitosis y SPT elevados, leucocitosis, neutrofilia, basofilia, linfocitosis y trombocitosis plasma icterico, anisocromía, poiquilocitosis, células diana, esferocitos, dacriocitos, cuerpos de Howell-Jolly, rouleaux, mieloblastos y mielocitos, neutrófilos con granulaciones tóxicas y núcleo en forma de anillo, macroplaquetas y linfocitos reactivos.

En histopatología, en los individuos inoculados se encontraron las siguientes alteraciones:

- En el G₁, en músculo, congestión, edema, hemorragia e infiltrado inflamatorio; en cerebro congestión y edema; en pulmón congestión y enfisema; en corazón congestión; en hígado congestión y hemorragia; en

bazo congestión, edema aumento de la pulpa roja; en riñón congestión, hemorragia, y dilatación del espacio urinífero.

- En el G₂, en músculo, inflamación y edema; en cerebro, congestión y edema; en pulmón, congestión, enfisema y hemorragia; en corazón, congestión y hemorragia, en hígado, congestión y degeneración celular; en bazo, depleción de la pulpa roja y en riñón, congestión y hemorragia.
- G₃, en músculo, edema e infiltrado inflamatorio; en cerebro, edema y congestión; en hígado, congestión y degeneración celular; en bazo, depleción de la pulpa roja e infiltrado inflamatorio; en riñón, congestión e infiltrado inflamatorio.

Basado en estas alteraciones, es posible concluir que el veneno de *C. simus* adulta se caracteriza por poseer acción principalmente hemotóxica, coincidiendo con la variación ontogénica reportada por diversos autores; siendo capaz de inducir disturbios hemodinámicos y proinflamatorios, debido a la respuesta exacerbada como resultado del daño tisular. Así mismo, las lesiones estructurales en hígado, riñón y pulmón atribuyen actividad hepatotóxica, nefrotóxica y neumotóxica.

CAPITULO VI: RECOMENDACIONES

- Para determinar la amplitud de las alteraciones musculares y viscerales inducidas por el veneno de *C. simus* con mayor precisión se sugiere en futuras investigaciones analizar marcadores bioquímicos específicos de daño tisular y alteraciones funcionales priorizando tiempo de coagulación, perfil renal, perfil hepático y saturación de oxígeno.
- Desarrollar un análisis epidemiológico a nivel nacional que permita elaborar una base de datos sobre la incidencia de accidentes ofídicos en animales domésticos y de producción.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Acevedo, E., y Chávez, J. (2014). *Comportamiento Clínico, Epidemiológico y uso de Suero Antiofídico BIOL, en el Manejo de Accidente Ofídico en Hospitales de Chontales, Río San Juan, Matagalpa Y Jinotega, en el Período de enero a agosto de 2013.* <https://repositorio.unan.edu.ni/3003/1/75123.pdf>
- Arnaud, G., Carbajal, A., y Pozas. Fernando. (2019). Comprendiendo el Veneno de las Serpientes de Cascabel: Componentes, Efectos y uso Potencial. *Áreas Naturales Protegidas Scripta*, 5. http://areas-naturales-protegidas.org/scripta/Volumen10/ARTICULO_3.pdf
- Ávila, H. (2017). *Serpiente de cascabel entre el Peligro y la Conservación.* <https://biblioteca.semarnat.gob.mx/janium/Documentos/Ciga/libros2018/CD003263.pdf>
- Brenes, M. (2014). Accidente Ofídico. *Revista Médica de Costa Rica y Centroamericana*, 543–545. <https://www.medigraphic.com/pdfs/revmedcoscen/rmc-2014/rmc143zd.pdf>
- Bruni, M., Marega, N., y Ruiz, C. (2020). *Guía para el Reconocimiento y Prevención de Accidentes por Animales Ponzoñosos en la Región norte de la Provincia de La Pampa.* <http://www.unlpam.edu.ar/images/extension/edunlpam/Guia%20Animales%20Ponzo%C3%B1osos.pdf>

- Calvete, J., Sanz, L., de la Torre, P., Florez, M., Dos Santos, C., Borges, A., Bremo, A., Angulo, Y., Lomonte, B., Alape, A., y Gutiérrez, J. (2009). Snake Venomics of the Central American Rattlesnake *Crotalus simus* and the South American *Crotalus durissus* Complex Points to Neurotoxicity as an Adaptive Paedomorphic Trend Along *Crotalus* Dispersal in South America. *Journal of Proteome Research*, 9. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19863078/>
- Castañeda, F., Echeverry, D., y Buritica, E. (2016, february). Manejo Médico de un Accidente Ofídico en un Perro Causado por *Bothrops asper*. Reporte de Caso. *Revista CES Medicina Veterinaria y Zootecnia*. <http://www.scielo.org.co/pdf/cmzv/v11n1/v11n1a10.pdf>
- Castro, E., Benard, M., Paniagua, D., Boyer, L., Possani, L., López, F., Olivera, A., Romero, C., Zamudio, F., y Alagón, A. (2020, july 17). Farmacocinética del Veneno de Serpiente de Cascabel Neotropical (*Crotalus simus*) en Linfa y Sangre Utilizando un Modelo Ovino. *MDPI*. <https://sci-hub.se/10.3390/toxins12070455>
- Castro, E., Lomonte, B., Gutiérrez, M., Alagón, A., y Gutiérrez, J. (2013). Intraspecies Variation in the Venom of the Rattlesnake *Crotalus simus* from Mexico: Different Expression of Crotoxin Results in Highly Variable Toxicity in the Venoms of Three Subspecies. *ELSEVIER*. <https://sci-hub.se/https://doi.org/10.1016/j.jprot.2013.05.024>
- Charles, D. (2011, July 11). *Anestesia de un Ratón con Éter y Cloroformo*. FarmUpibi. <https://farmupibi.blogspot.com/2011/07/anestesia-de-un-raton-con-eter-y.html>
- Chinchilla, A. (2019). Caracterización Proteómica y Toxicológica del Veneno de *Crotalus pifanorum* (*Viperidae*) y Evaluación de su uso como Inmunógeno sobre la Respuesta por Anticuerpos contra Co-inmunógenos y Venenos de otros Crótalos Americanos [Universidad de Costa Rica]. <https://kerwa.ucr.ac.cr/handle/10669/80266>
- Coto, E. (2023). Manejo de Víboras de Cascabel (*Crotalus simus*) en Serpentarios para la Extracción, Procesamiento y Determinación del Veneno con fines de

Investigación en El Salvador [Universidad de El Salvador].
<https://ri.ues.edu.sv/id/eprint/31589/1/Trabajo%20de%20graduaci%C3%B3n%20Monserrath%20Coto%202023%20ABRIL.pdf>

Del Río, J. (2020, January 31). *Fisiopatología del Estrés*. BMEditores.
<https://bmeditores.mx/avicultura/fisiopatologia-del-estres/>

Del Rosario, R., y Gutiérrez Millón, M. (2019). *Manual para Interpretación de Exámenes de Laboratorio de Rutina en Caninos* [Universidad Nacional Agraria].
<https://repositorio.una.edu.ni/3931/1/tnl70g633.pdf>

Diccionario Médico. (2023). *Diccionario Médico*. Clínica Universidad de Navarra.
<https://www.cun.es/diccionario-medico/terminos/dacriocito>

Dolian, S. (2018). *Estudio Hematológico en Pacientes Caninos con Esplenomegalia a los Cuales se les Práctico una Remoción Quirúrgico* [Universidad Nacional de la Plata]. <http://sedici.unlp.edu.ar/handle/10915/67825>

Espejo, G. (2018). *El Aumento del Diámetro del Calibre Utilizado para la Extracción Sanguínea, Disminuye el Número de Muestras Hemolizadas Remitidas al Laboratorio* [Universidad Pontificia Comillas].
<https://repositorio.comillas.edu/xmlui/handle/11531/35908>

Estrada, S., Quintana, J., y Vargas, L. (2014, June). Accidente Ofídico en Animales de Pastoreo: Acercamiento Epidemiológico, Clínico y de Manejo.
<http://www.scielo.org.co/pdf/rmv/n27/n27a13.pdf>

Figueiredo, R., da Silva, M., Azevedo, E., Souza, M., Castro, S., de Bessa, J., y Ilka Bondi. (2023). Pathophysiological and Clinical Significance of *Crotalus durissus cascavella* Venom-Induced Pulmonary Impairment in a Murine Model. *PubMed*.
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC10141213/pdf/toxins-15-00282.pdf>

Fox, J. (2007). *The Mouse in Biomedical Research: 2nd Edition* (J. Fox, S. Barthold, M. Davisson, C. Newcomer, F. Quimby, y A. Smith, Eds.; 2nd ed., Vol. 3). ELSEVIER

Inc. <https://www.sciencedirect.com/book/9780123694546/the-mouse-in-biomedical-research>

Gallegos, G., Reta, F., y Robles, A. (2015). Caracterización de la Reactividad Cruzada del Faboterápico Polivalente Antivipireno contra el Veneno de Serpientes Mexicanas del Género *Crotalus*, Especies *C. basiliscus*, *C. atrax*, *C. ravus*, *C. molossus* [Instituto Nacional de Salud Pública]. <http://www.catalogoinsp.mx/files/tes/052550.pdf>

Gallo, C. (2014). *Manual de Diagnóstico con Énfasis en Laboratorio Clínico Veterinario* [Universidad Nacional Agraria]. <https://repositorio.una.edu.ni/2745/1/tnl70g172m.pdf>

Google Maps. (n.d.). *Universidad de Ciencias Comerciales*. Retrieved July 13, 2023, from https://www.google.com/maps/place/Universidad+de+Ciencias+Comerciales/@12.1267071,-86.2448842,15z/data=!4m6!3m5!1s0x8f712020ca0d110d:0xc89050d5e28e4a3d!8m2!3d12.1230358!4d-86.2499053!16s%2Fm%2F03d8_b5?entry=ttu

Gutiérrez, J. (2011). Envenenamientos por Mordeduras de Serpientes en América Latina y el Caribe: Una Visión Integral de Carácter Regional. *Boletín de Malariología y Salud Ambiental*, 51(1). https://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1690-46482011000100001

Hamad, H., y Mangla, A. (2023, June). *Lymphocytosis*. National Library of Medicine. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK549819/>

Harvey, J. (2012). *Veterinary Hematology: Diagnostic Guide and Color Atlas* (H. Pohlman, Ed.; Vol. 1). ELSEVIER Inc. <https://drive.google.com/file/d/1VSjDtM-nclnit0OXrTYunSsvli8G33fR/view?usp=drivesdk>

HerpetoNica. (2015). *Guía Ilustrada de Anfibios y Reptiles De Nicaragua*. https://www.researchgate.net/profile/Jose-Martinez-Fonseca/publication/326930729_Guia_Ilustrada_de_los_Anfibios_y_Reptiles_de

[Nicaragua Herpetonicas/links/5b6d3ec192851ca650543651/Guia-Illustrada-de-los-Anfibios-y-Reptiles-de-Nicaragua-Herpetonicas.pdf](https://www.scielo.org/links/5b6d3ec192851ca650543651/Guia-Illustrada-de-los-Anfibios-y-Reptiles-de-Nicaragua-Herpetonicas.pdf)

Hideaki, E., Juste, M., Fontana, I., Matiello, J., Cogo, J., Cruz, M., Grotto, D., Hyslop, S., Hanai, V., y Franco, Y. (2022). Oxidative Stress and Changes in Hematological and Biochemical Biomarkers in *Crotalus Durissus Terrificus* (South American Rattlesnake) Venom-Induced Acute Kidney Injury in Rats. *SciELO*, 30. <http://www.scielo.org.ar/pdf/ata/v30n1/1851-3743-ata-30-01-11.pdf>

Hobbie, K., Elmore, S., y Kolenda, H. (2023). Nonneoplastic Lesion - Atlas (J. Ward y R. Maronpot, Eds.). National Toxicology Program. <https://ntp.niehs.nih.gov/atlas/nnl/immune-system/spleen/Atrophy>

ICP. (2016). *El Envenenamiento por Mordedura de Serpiente en Centroamérica*. https://www.icp.ucr.ac.cr/sites/default/files/content/El_envenenamiento_por_mordedura_en_Centroamerica_2016.pdf

INSHT. (2007). *Documentación Toxicológica para el Establecimiento del Límite de Exposición Profesional del Cloroformo*. <https://www.insst.es/documents/94886/290254/DLEP%2026.pdf/c5872b23-3ba8-47bf-bbbc-13619bc1618a?version=1.0yt=1528396254795>

Isea, G., Rodríguez, I., Isea, E., y Montero, M. (2008, december). Presentación de Cámara Anestésica de Bajo Costo como Herramienta Didáctica para Explicar los Fundamentos de la Anestesia General a Estudiantes de Medicina Veterinaria. *Revista Ciencias de La Salud*. <http://www.scielo.org.co/pdf/recis/v6n3/v6n3a6.pdf>

Lara, J. (2019). *Biología, Toxinología y Terapéutica de Especies Venenosas de Interés Veterinaria en Nicaragua* [Universidad Nacional Agraria]. <https://repositorio.una.edu.ni/3925/1/tnl60l318.pdf>

Lastra, S., Rodríguez, A., y Jaime, F. (2014). Protocolo de Vigilancia en Salud Pública-Accidente Ofídico (2). <https://manizalessalud.net/wp-content/uploads/2017/11/PRO-Accidente-Ofidico.pdf>

León, M., Alvarado, A., Armas, J., Alvarado, M., Varens, J., y Cuesta, J. (2015). Respuesta Inflamatoria Aguda. Consideraciones Bioquímicas Celulares. *Revista Finlay*. http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2221-24342015000100006

LEY N°. 747. (2011). Ley para la Protección y el Bienestar de los Animales Domésticos y Animales Silvestres Domesticados. In *Publicada en La Gaceta, Diario Oficial N°. 96 del 26 de mayo*. <http://legislacion.asamblea.gob.ni/normaweb.nsf/b92aeea87dac762406257265005d21f7/cf820e2a63b1b690062578b00074ec1b>

Lomonte, B. (2012). Venenos de Serpiente: de la Investigación al Tratamiento. In *Acta Médica Costarricense* (2nd ed., Vol. 54). Instituto Clodomiro Picado. <https://scielo.sa.cr/pdf/amc/v54n2/art04.pdf>

López, A., Martínez, L., Martínez, I., Romero, L., Salas, G., Trigo, F., Valero, G., y Vanda, B. (2017). *Patología General Veterinaria* (6°). Universidad Nacional Autónoma de México. <file:///C:/Users/pc/Downloads/Patologia%20General%20Veterinaria%20-%205ta.pdf>

Melgar, M., Pérez, M., Camiña, M., Puerta, J., Cantalapiedra, J., Yllera, M., Blanco, I., Velásquez, J., Mercedes, Y., y Luna, D. (2015). Bienestar Animal. Métodos de Eutanasia y Aturdimiento. https://mediorural.xunta.gal/sites/default/files/publicacions/2019-10/METODOS_DE_EUTANASIA_1.pdf

Ministerio de la Salud (MINSA). (2011). *Cartilla para la Prevención y el Manejo de las Mordeduras de Serpientes*. <https://www.minsa.gob.ni/sites/default/files/2022-10/CARTILLA%20MORDEDURA%20DE%20SERPIENTE.pdf>

- Montes, C., Battle, A., Núñez, J., y Insunza, A. (2012). Conceptos Básicos, Aproximación Diagnóstica y Manejo Extrahospitalario de la Patología Eritrocitaria. *ELSEVIER*, 11. [https://sci-hub.se/https://doi.org/10.1016/S0304-5412\(12\)70469-9](https://sci-hub.se/https://doi.org/10.1016/S0304-5412(12)70469-9)
- Morales Briceño, A., Molina, M., Brito, Y., Y Moreno 2., Méndez, O., Álvarez, M., Esteves, C, y Moya, M. (2018). Técnicas de Necropsia y Toma de Muestras en Animales de Rexperimentación: Una revisión bibliográfica y actualización. *Revista Del Instituto Nacional de Higiene "Rafael Rangel,"* 57–58. <file:///C:/Users/pc/Downloads/18687-Texto%20del%20art%C3%ADculo-144814489893-1-10-20200526.pdf>
- Morales, L. (2023). *Atlas Hematología Comparativa de Especies Animales* [Universidad Cooperativa de Colombia]. <https://repository.ucc.edu.co/server/api/core/bitstreams/7f7a17eb-ad0f-4b21-b416-7a34b5f2b5ce/content>
- Moya, J. (2019, September 6). *Comportamiento Poco Común en Individuo Juvenil de Crotalus simus*. Área de Conservación Guanacaste- Fuente de Vida y Desarrollo. <https://www.acguanacaste.ac.cr/biodiversidadacg/observaciones-de-biodiversidad/4704-i-crotalus-simus-i>
- Necropsia en Mamíferos. (2016). Anatomía Patológica Especial. Necropsia En Mamíferos, 2. <https://www.um.es/documents/4874468/8988258/guia-necropsia-mamiferos.pdf/5d01457c-0394-4c18-8f08-18e8c5ed8fe5>
- Olivera, M., y Manzano, J. (2020, June 24). Efectos Bioquímicos e Histopatológicos en Ratas Inducidos por el Veneno de *Crotalus durissus cumanensis* del Municipio Falcón, Estado Falcón, Venezuela. *Revista Medicina Veterinaria*. <http://www.scielo.org.co/pdf/rmv/n41/2389-8526-rmv-41-33.pdf>
- OMS. (2019). *Estrategia Global para la Prevención y el Control de la Mordedura de Serpiente*. <https://www.who.int/es/news/item/23-05-2019-who-launches-global-strategy-for-prevention-and-control-of-snanebite-envenoming>

OPS. (2022, September 2). Cada Año, Aproximadamente 5 Millones de Personas son Mordidas por Serpientes y más de 130.000 Mueren por Complicaciones en el Mundo. Oficina Regional Para Las Américas de La Organización Mundial de La Salud. <https://www.paho.org/es/noticias/2-9-2022-cada-ano-aproximadamente-5-millones-personas-son-mordidas-por-serpientes-mas#:~:text=en%20el%20mundo-.Cada%20a%C3%B1o%2C%20aproximadamente%205%20millones%20de%20personas%20son%20mordidas%20por,por%20complicaciones%20en%20el%20mundo,doystext=PANAFTOSA%2012%20de%20septiembre%20de,de%20amenaza%20para%20el%20bioma>.

Pereyra, C. (2019, December). Anemia Ferropénica en el Laboratorio Clínico. *Dirección Nacional de Sanidad de Las Fuerzas Armadas*. <https://www.dnsffaa.gub.uy/detalle-nota/anemia-ferropenica-en-el-laboratorio-clinico-iron-deficiency-anemia-in-the-clinical-laboratory-anemia-por-deficiencia-de-ferro-no-laboratorio-clinico>

Pérez, R., Estepa, J., y Mendoza, F. (2012, september 18). *Alteraciones Morfológicas de la Serie Blanca*. Portal Veterinaria. <https://www.portalveterinaria.com/animales-de-compania/articulos/22174/alteraciones-morfologicas-de-la-serie-blanca.html>

Portiansky, E., Barbeito, C., Fernández, P., y Pachamé, A. (2019). *Patogenia en Patología Veterinaria* (Segunda Edición). Universidad Nacional de La Plata. http://sedici.unlp.edu.ar/bitstream/handle/10915/149924/Documento_completo.pdf-PDFA.pdf?sequence=1&isAllowed=y

Posada, S. (2015, may 5). Aspectos Epidemiológicos, Clínicos y de Tratamiento para el Accidente Ofídico en Perros y Gatos. *Revista Médica Veterinaria*. <http://www.scielo.org.co/pdf/rmv/n30/n30a13.pdf>

Ramis, G., y Pallarés, F. (2019). Infiltrado Inflamatorio en Animales Vacunados Frente a E. Coli. *Revista PorciNews*. https://vetia.es/wp-content/uploads/2018/01/0819_VETIA_separata-InfiltradoInflamatorio_Ecoli-sinmarcas.pdf

Reagan, W., Irizarry, A., y De Nicola, D. (2019). Veterinary Hematology: Atlas of Common Domestic and Non-Domestic Species (J. y S. Inc. Wiley, Ed.; Tercera Edición). 2019. https://drive.google.com/file/d/1U9K_H-4qpq8c4B4_z_WA9rMDUG93rhvm/view?usp=drivesdk

Rengifo, A. (2017). Especificación de la Actividad Neutralizante del Extracto Etanólico de Piper Auritum (Kunth, 1816) Contra el Veneno de *Bothrops asper* (Serpentes: Viperidae) de la Población de La Cuenca del Rio Cauca [Universidad del Cauca]. <http://repositorio.unicauca.edu.co:8080/bitstream/handle/123456789/4325/Especificaci%C3%B3n%20de%20la%20actividad%20neutralizante%20del%20extracto%20etan%C3%B3lico%20de%20Piper%20auritum%20contra%20el%20veneno%20de%20Bothrops%20asper%20de%20la%20poblaci%C3%B3n%20de%20la%20cuenca%20del%20r%C3%ADo%20Cauca.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

Ricciardi, B. (2020). Evaluación Fitoquímica y Biológica (Actividades Antimicrobiana y Alexitérica) de Extractos de *Cissampelos pareira* [Universidad Nacional del Nordeste]. <https://repositorio.unne.edu.ar/handle/123456789/27719>

Rodríguez, K., Pérez, M. del C., Noriega, J. R., Sanabria, M., Mogollón, A., y Álvarez, C. (2014). Evaluación Histopatológica de los Efectos del Veneno de *Crotalus durissus cumanensis* y *Crotalus durissus vegrandis*. Sobre Tejido Hepático, Pulmonar y Músculo Esquelético En Ratonos *nmri*. <https://core.ac.uk/download/pdf/71507591.pdf>

Roldán, O. (2019). Caracterización Bioquímica de Serín Proteasas, Fosfolipasas A2, Hialuronidasas y Metaloproteinasas de Veneno de *Crotalus aquilus*, *Crotalus polystictus* y *Crotalus molossus nigrescens* [Universidad Autónoma de Querétaro]. <https://ri-ng.uaq.mx/handle/123456789/1618>

- Ruiz, L., Vivas, D., Lazo, F., Seifert, W., Rodríguez, E., Sandoval, G., y Yarlequé, A. (2017, October). Purificación y Caracterización Bioquímica de la Enzima Similar a Trombina del Veneno de la Serpiente *Bothrops brazili*. *SCIELO*. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=371954396011>
- Sánchez, E., Renzo, F., Alvarenga, V., y Eble, J. (2017). Direct Fibrinolytic Snake Venom Metalloproteinases Affecting Hemostasis: Structural, Biochemical Features and Therapeutic Potential. *MDPI*. <https://www.mdpi.com/2072-6651/9/12/392>
- Santos, E. W., Cunha, D., Hastreiter, A., Batista, G., Soares, J., Tsujita, M., Rabelo, A., Peris, S., Ambrósio, R., y Borelli, P. (2016). Hematological and Biochemical Reference Values for C57BL/6, Swiss Webster and BALB/c mice. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, 53, 141. <https://www.revistas.usp.br/bjvras/article/view/103850/114101>
- Sanz, N. (2016). Interpretación del Hemograma. *Ateuves*. https://ateuves.es/revista-online/ateuves_60.html
- Sasa, M., Bonilla, F., y Chaves, F. (2019). Serpientes Venenosas de Costa Rica: Biología Básica (Instituto Clodomiro Picado, Ed.; 1º edición). Universidad de Costa Rica. <https://www.icp.ucr.ac.cr/sites/default/files/content/serpientes-venenosas-de-cr-biologia-basica-icp.pdf>
- Satish, K. {b kj', Saha, K., Patra, A., y Rekha, J. (2021, February 13). Perfil Histopatológico de Casos Fatales de Autopsia por Mordedura de Serpiente en un Centro de Atención Terciaria en el sur de la India. *Revista Egipcia de Ciencias Forenses*. <https://ejfs.springeropen.com/articles/10.1186/s41935-021-00218-6>
- Scanferla, C. (2010). El Origen y Evolución Temprana de las Serpientes: Análisis Anatómico y Filogenético de los Ofidios Cretácicos y Paleógenos de la Patagonia y Bolivia [Universidad Nacional de La Plata]. <http://sedici.unlp.edu.ar/handle/10915/4305>

- Schoeman, J., y Goddard, A. (2013). World Small Animal Veterinary Association World Congress Proceedings. *Snakebite: Facing the Challenges*. <https://www.vin.com/apputil/content/defaultadv1.aspx?id=5709822ypid=11372yprint=1>
- Semarnat. (2018). *Programa de Acción para la Conservación de las Especies: Serpientes de Cascabel (Crotalus spp.)*. https://www.conanp.gob.mx/pace/PACE_Serpientes_de_Cascabel.pdf
- Solano, J., Molano, E., Bernal, M., y Arango, W. (2019). Actividad Fosfolipasa, Hemolítica y Bactericida Preliminar del Veneno de la Serpiente de Cascabel del Tolima. *SCIELO*, 2. <http://www.scielo.org.co/pdf/cide/v11n1/0121-7488-cide-11-01-119.pdf>
- Soler, D., y Rodriguez, D. (2006, November 24). Aspectos Toxinológicos y Clínicos de la Mordedura por Serpientes Venenosas en Animales Domésticos. *Revista de Medicina Veterinaria y Zootecnia*. <https://repositorio.unal.edu.co/bitstream/handle/unal/31349/17815-57186-1-PB.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Solís, D., y Tinoco, B. (2014). “Manejo Clínico Según Norma Terapéutica, de Pacientes Atendidos con Accidente Ofídico en el Área de Emergencia. Hospital Gaspar García Laviana- Rivas. Enero 2010- diciembre 2014.” [Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua]. <https://dokumen.tips/documents/universidad-nacional-autonoma-de-nicaragua-2017-11-24-nuestro-trabajo-monografico.html?page=1>
- Solórzano, A. (2020, May 28). La Cascabel que Habita en Costa Rica. Área de Conservación Guanacaste. <https://www.icp.ucr.ac.cr/es/informacion-y-materiales/serpientes-venenosas-de-costa-rica/crotalus-simus#:~:text=En%20Costa%20Rica%20se%20encuentra,y%20en%20zonas%20poco%20perturbadas.>

- Sousa, F., y Araújo, R. (2022, February 9). Ictericia: Damaifestaçãoomanejo clínico- Terapêutico. *Veterinaria y Ciencia Animal*. <https://rvz.emnuvens.com.br/rvz/article/view/658>
- Suiza Vet. (2014, April 3). *Manual Veterinario*. Hematología. <http://www.suizavet.com/manuales/hematologia.pdf>
- Sunyer, J. (2014, December 26). An Updated Checklist of the Amphibians Reptiles of Nicaragua. *Mesamerican Herpetology*. https://www.researchgate.net/publication/331950746_An_updated_checklist_of_the_amphibians_and_reptiles_of_Nicaragua
- Urbay, A., Cruz, H., y Sosa, W. (2023, March 1). Diagnóstico y Tratamiento de los Pacientes Lesionados por Serpientes Venenosas en la República Bolivariana de Venezuela. *Acta Médica Del Centro*. <https://docs.google.com/viewerng/viewer?url=https://revactamedicacentro.sld.cu/index.php/amc/article/viewFile/1846/1608>
- Uribe, A. (2014). Caracterización Bioquímica, Farmacológica y Toxicológica del Veneno de *Bothrops asper* de la República de Panamá [Universidad de Panamá]. http://up-rid.up.ac.pa/1943/4/alina_uribe.pdf
- Vásquez, C., y Avendaño, C. (2009). Manual para la Identificación, Prevención y Tratamiento de Mordeduras de Serpientes Venenosas en Centro América. Organización Panamericana de la Salud, Organización Mundial de la Salud. https://iris.paho.org/bitstream/handle/10665.2/50423/manualidentificacion_spa.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Velásquez, G., Alcántara, I., Hernández, J., y Garnica, R. (2014, March 26). La Zonificación Morfotectónica-Volcánica en el Análisis Morfoestructural del Relieve:el Caso del Municipio de Managua, Nicaragua. <https://www.redalyc.org/journal/569/56940684009/html/#fn1>

- Vélez, S. (2016). "Variación Geográfica de la Actividad Farmacológica y Tóxica del Veneno de *Bothrops asper* de Panamá" [Universidad de Panamá]. <http://up-rid.up.ac.pa/1321/1/sara%20velez.pdf>
- Villalba, E., y Vildoza, O. (2014). Trastorno Hemodinámicos II: Hiperemia, Congestión, Hemorragia y Hemostasia. *Revista de Actualización Clínica Investiga*, 82. http://revistasbolivianas.umsa.bo/pdf/raci/v43/v43_a08.pdf
- Villena, J., y Tamayo, C. (2011). Conocimientos y Prácticas de los Médicos Tradicionales, Utilizados para Mordeduras de Serpientes, Potrerillos, Tarija, 2011 [Ministerio de Salud y Prevención Social y Deportes Universidad Mayor de San Andres]. https://docs.bvsalud.org/biblioref/2018/08/909322/conocimientos-y-practicas-de-los-medicos-tradicionales-utilizad_gkkIMyj.pdf
- Zachary, J., y Donald, M. (2012). Pathologic Basis of Veterinary Disease (S. Stringer, Ed.; 5th ed.). ELSEVIER. https://drive.google.com/file/d/13-SBdG3r2yGwvs_kEAPjGnc7iBdvOJG_/view
- Zúñiga, I., y Caro, J. (2013). Aspectos Clínicos y Epidemiológicos de la Mordedura de Serpientes en México. *Evidencia Médica e Investigación En Salud*, 6(4). <https://www.medigraphic.com/pdfs/evidencia/eo-2013/eo134d.pdf>

ANEXOS

Anexo a

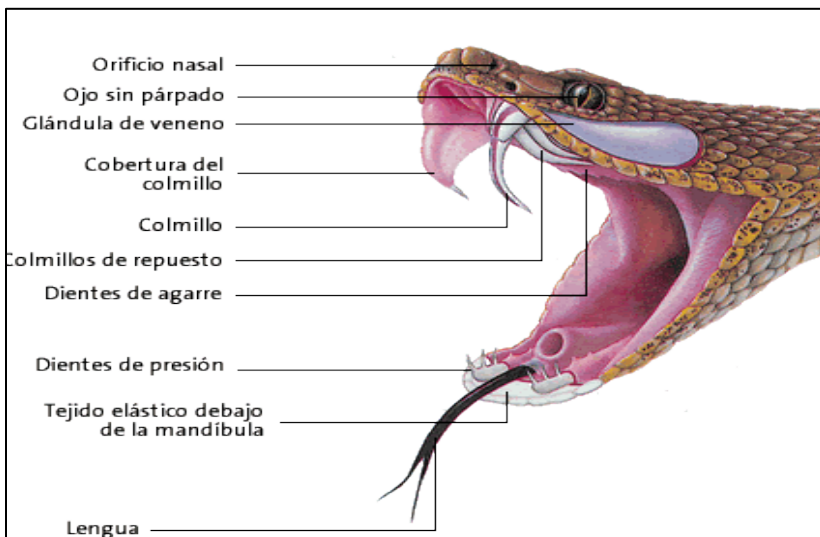
Ejemplar adulto de Crotalus simus



Nota: Vista dorsal de *Crotalus simus*. Fuente: Berroneau (2017).

Anexo b

Aparato ponzoñoso de Crotalus simus



Nota: Estructura anatómica del aparato inoculador de *Crotalus simus*.

Fuente: Pérez (2012).

Anexo c

Centrifugado del veneno



Nota: Centrifugado del veneno a 2000 rpm. durante 15 minutos.
Fuente: Autoría propia.

Anexo d

Eliminación del sobrenadante



Nota: Eliminación del sobrenadante del veneno para posterior dilución del sedimento. *Fuente:* Autoría propia.

Anexo e

Colocación del sedimento en vial



Nota: Colocación del sedimento del veneno en vial para su dilución.
Fuente: Autoría propia.

Anexo f

Dilución del veneno en agua destilada



Nota: Dilución del veneno en agua destilada para su inoculación.
Fuente: Autoría propia.

Anexo g

Pesaje de ratones Mus musculus



Nota: Pesajes de los ratones para calcular dosis de inoculación. Fuente: Autoría propia.

Anexo h

Sedación de ratones Mus musculus con Cloroformo al 4%



Nota: Sedación de los individuos sometidos al estudio. Fuente: Autoría propia.

Anexo i

Inoculación del veneno de Crotalus



Nota: Inoculación del veneno de *Crotalus simus* por vía intraperitoneal. Fuente: Autoría propia.

Anexo j

Individuos post inoculación



Nota: Grupos experimentales de individuos inoculados. Fuente: Autoría propia.

Anexo k

Ratones sacrificados por el método de dislocación cervical



Nota: Ratones inoculados e individuo control, sacrificados con el método de dislocación cervical. Fuente: Autoría propia.

Anexo l

Toma de muestra sanguínea



Nota: Toma de muestra sanguínea por punción cardíaca. Fuente: Autoría propia.

Anexo m

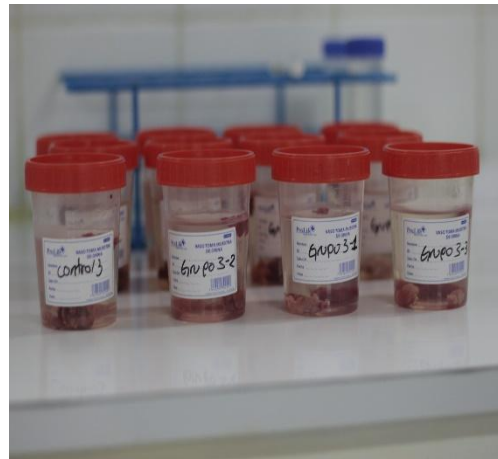
Disección de ratón



Nota: Disección de ratón para toma de muestra de tejidos viscerales y muscular. Fuente: Autoría propia.

Anexo n

Muestras para remisión



Nota: Muestras rotuladas para remisión al laboratorio de patología CEVEDI. Fuente: Autoría propia.

Anexo ñ

Ficha de Protocolo Experimental



UNIVERSIDAD DE CIENCIAS COMERCIALES
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
Coordinación de Medicina Veterinaria y Zootecnia



PROTOCOLO EXPERIMENTAL

Nº Grupo: _____

Nº Individuo	Peso	Sedación	Hora	Dosis de inoculación	Hora	Sacrificio	Hora

Nota: Ficha de Registro y control. Fuente: Autoría propia.

UNIVERSIDAD DE CIENCIAS COMERCIALES



UCC- SEDE MANAGUA

DIRECCIÓN DE INVESTIGACIÓN

Relación de Autores

Revisado por:

Lic. Fernando Monge- Dirección de
Investigación



Autorizado por:

Dra. Fabiola Somarriba – Vice Rectoría
Académica



*Por nuestro Prestigio, Trayectoria y Calidad
¡Somos la Universidad de la Gente que Triunfa!*