

Efecto mionecrótico del veneno de *Aphonopelma seemanni* (Araneae: Theraphosidae) de Costa Rica en ratón blanco

Marco V. Herrero

Centro Universitario del Atlántico, Universidad de Costa Rica. Dirección actual: Department of Entomology, Oklahoma State University, Stillwater, Oklahoma 74078, USA.

José María Gutiérrez

Instituto Clodomiro Picado, Facultad de Microbiología, Universidad de Costa Rica.

(Recibido para su publicación el 29 de febrero de 1984)

Abstract: The venom of female spiders (*Aphonopelma seemanni*) induces necrosis of skeletal muscle in mice. This effect was demonstrated by histology and by the increase in the plasma levels of the enzyme creatine kinase (CK).

Aphonopelma seemanni es una araña terafósida que se encuentra principalmente en la región del Pacífico Seco de Costa Rica (Valerio, 1980). Popularmente se le ha relacionado con lesiones necróticas en ganado, aunque no existen bases científicas que lo demuestren.

Algunos investigadores han logrado aislar y caracterizar una serie de toxinas de los venenos de algunas arañas del hemisferio norte. De algunas especies de la familia Theraphosidae, tales como *Brachypelma emilia*, *Dugesia hentzi* y dos especies del género *Aphonopelma*, se aislaron toxinas capaces de inducir necrosis de músculo esquelético y cardíaco de ratón blanco (Odell *et al.*, 1980). Estas necrotoxinas son proteínas básicas que poseen un alto contenido de lisina (Cabbiness, 1979). Además, los perfiles electroforéticos de estos venenos, incluyendo el de *A. seemanni*, muestran un patrón similar (Odell *et al.*, 1980), lo que sugiere una posible identidad de sus componentes.

Estudios previos en nuestro laboratorio mostraron que el veneno de *A. seemanni* no es capaz de inducir hemorragia, necrosis subcutánea y edema en el ratón blanco, pero sí mionecrosis. La dosis letal 50 por ciento es de 14,4 $\mu\text{g/g}$ por la vía subcutánea. En el presente estudio se informa sobre el efecto mionecrótico del veneno de *A. seemanni* en ratón blanco y su relación con los niveles plasmáticos de la enzima creatina quinasa (CK).

Se colectaron 96 especímenes hembras de *A. seemanni* en Pozo Azul de Abangares (Guanacaste, Costa Rica) mediante disección diurna de los túneles en que viven. Las arañas fueron mantenidas en el laboratorio en recipientes plásticos, con un suministro regular de agua y alimento. El veneno se obtuvo mediante estimulación eléctrica de los segmentos basales de los quelíceros (Herrero *et al.*, 1982) y se colectó por medio de un capilar; se liofilizó y se almacenó a una temperatura de $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$. Durante el procedimiento de extracción se tomaron cuidados especiales para evitar la contaminación del veneno con secreciones digestivas externas.

En el estudio del efecto mionecrótico se inocularon tres ratones blancos intramuscularmente en el muslo derecho con 60 μg de veneno. A las 24 hr los animales fueron sacrificados y se obtuvo una muestra de tejido muscular, fijándose inmediatamente en formalina al 10%. Las preparaciones fueron teñidas con hematoxilina-eosina o con azul de toluidina y se observaron al microscopio de luz. Como experimento control dos ratones fueron inoculados con solución salina y las muestras fueron tratadas de la misma manera. También se determinó los niveles plasmáticos de la enzima creatina quinasa (CK) como un índice cuantitativo de la mionecrosis (Lee *et al.*, 1974). Grupos de 5 a 8 ratones fueron inoculados intramuscularmente con dosis de veneno de 10, 20, 30, 40 y 80 μg ; tres horas

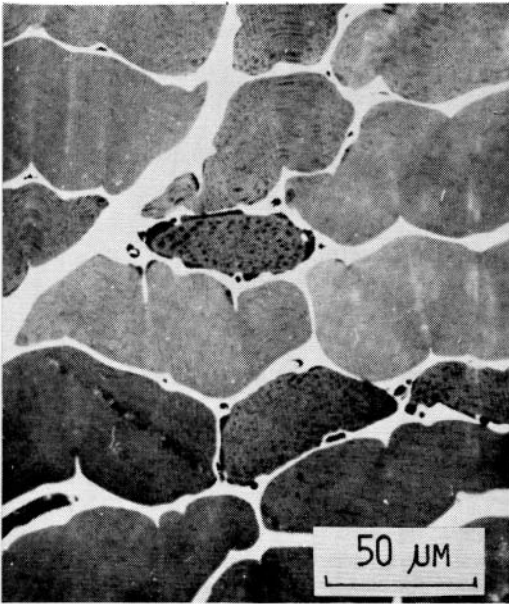


Fig. 1. Sección de músculo esquelético de un ratón inoculado con solución salina. La morfología de las células musculares es normal.

después se sangraron de la cola. La creatina quinasa se cuantificó en el plasma de acuerdo con el procedimiento recomendado y los reactivos de Sigma Chemical Company (Boletín Técnico 520). La actividad se expresó en unidades por ml; una unidad resulta en la fosforilación de un nanomol de creatina por minuto a 25 °C. Como experimento control, tres ratones fueron inoculados con solución salina.

En las Figuras 1 y 2 se muestran los cuadros histológicos que se observan 24 hr después de la inoculación del veneno y de solución salina. El veneno de *A. seemanni* induce una mionecrosis moderada en la cual fibras musculares necróticas se encuentran entremezcladas con fibras de apariencia normal. Se observa también un infiltrado inflamatorio. Este veneno no induce hemorragia ni otro tipo de alteraciones vasculares observables al microscopio de luz. En el Cuadro 1 se presentan los resultados de los experimentos para cuantificar los niveles plasmáticos de la enzima creatina quinasa. Todas las dosis de veneno inoculadas inducen un aumento en los niveles de esta enzima.

Este veneno además produce una temprana elevación de los niveles plasmáticos de creatina quinasa, lo que indica que es capaz de inducir rápidamente lesiones celulares en músculo. Lo

CUADRO 1

Niveles plasmáticos de creatina quinasa (CK) 3 hr después de inoculaciones intramusculares del veneno de *Aphonopelma seemanni*

Veneno (μg)	CK (unidades/ml)*
0**	36±10
10	77±18
20	146±26
30	172±58
40	215±44
80	528±48

* Los resultados se expresan en unidades/ml ± una desviación estándar.

** Ratones inoculados con solución salina.

anterior coincide con las observaciones efectuadas por Ownby y Odell (1983) quienes apreciaron mionecrosis 15 minutos después de inoculaciones experimentales de los venenos de *Dugesia hentzi* y *Aphonopelma* sp. en ratón. También esto correlaciona con los experimentos efectuados por Lee *et al.* (1974) en los que se observó un aumento significativo de los niveles séricos de creatina quinasa a consecuencia de inoculaciones intraperitoneales del veneno de *Dugesia hentzi* en ratón.

Agradecemos a las Dras. Elsa Portilla y Olga Arroyo su valiosa ayuda en la elaboración de los cortes histológicos. También agradecemos a los Dres. Róger Bolaños y Luis Cerdas por sus valiosas sugerencias en la elaboración de este trabajo. Este estudio se efectuó en el Instituto Clodomiro Picado de la Universidad de Costa Rica.

REFERENCIAS

- Cabbines, S. G.T. 1979. Comparison of venom components from four tarantula species. M. Sc. Thesis. Oklahoma State University
- Herrero, M.V., R. Bolaños, & G. V. Odell. 1982. Recolección, mantenimiento y manejo de *Sphaerobotia hoffmani* y *Aphonopelma seemanni* (Araneae: Theraphosidae) en Costa Rica. *Brenesia*, 19/20: 301-311.
- Lee, C.K., T. Chan, B. C. Ward, D.E. Howell, & G. V. Odell. 1974. The purification and characterization of a necrotoxin from tarantula, *Dugesia hentzi* (Girard) venom. *Arch. Biochim. Biophys.*, 164: 341-350.

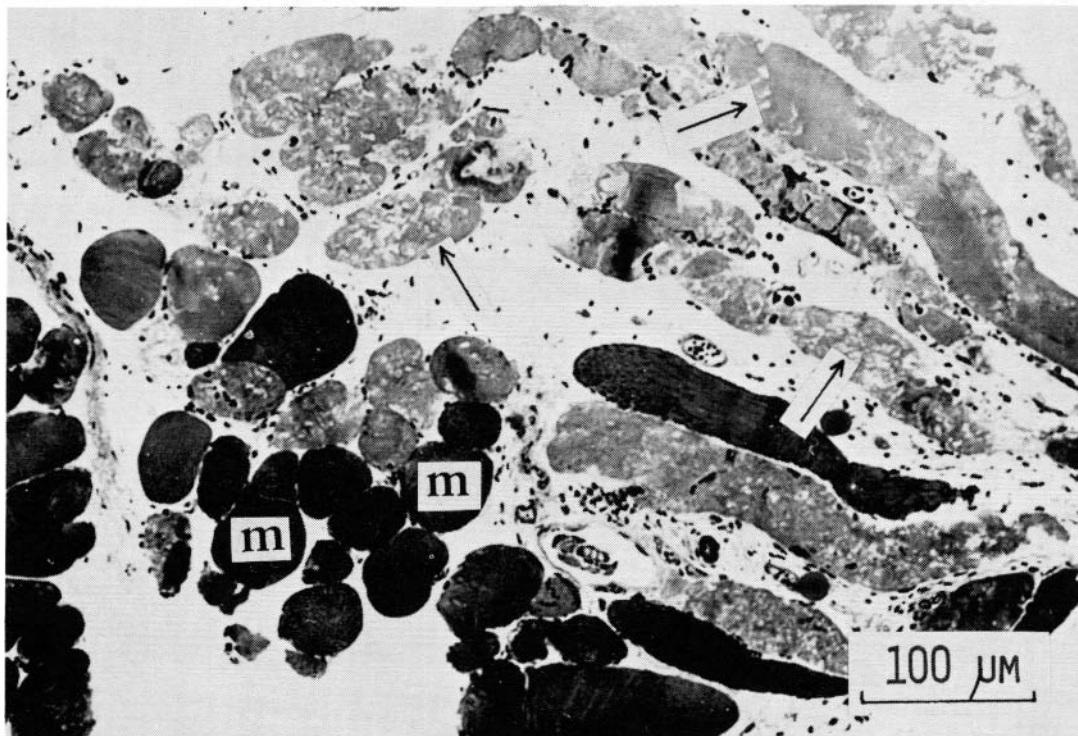


Fig. 2. Sección de músculo esquelético obtenido 24 hr después de la inoculación de 60 μ g de veneno de *A. seemanni* por la vía intramuscular. Se observan células necróticas (flechas) entremezcladas con células de morfología normal (M). También se observa un infiltrado inflamatorio.

Odell, G. V., S.G.T. Cabbiness, C.L. Ownby, M.V. Herrero, & R. Bolaños. 1980. Tarantula venom components: A species comparison. *Fed. Proc.*, 39:1646.

Ownby, C.L., & G.V. Odell. 1983. Pathogenesis of skeletal muscle necrosis induced by tarantula

venom. *Exp. Molec. Pathol.*, 38: 283-296.

Valerio, C. 1980. Arañas terafósidas en Costa Rica (Araneae: Theraphosidae). III. *Sphaerobotria*, *Aphonopelma*, *Pterinopelma*, *Citharacanthus*, *Crypsidromus* y *Stichoplastus*. *Rev. Biol. Trop.*, 28: 271-296.