



## XXVI Comunicaciones Científicas y Tecnológicas

Orden Poster: CE-044 (ID: 2148)

**Autor:** Sasovsky, Daniela Jacqueline

**Título:** Efecto del veneno de *Bothrops diporus* sobre el sistema vascular de embriones de *Gallus gallus domesticus*

Director: Bustillo, Soledad

Palabras clave: yarará chica, membranas corioalantoideas, embriotoxicidad.

Área de Beca: Cs. Naturales Y Exactas

Tipo Beca: Conicet

Periodo: 01/04/2020 al 01/04/2024

Lugar de trabajo: Iquia Nea - Inst. De Química Básica Y Aplicada Del Nordeste Argentino

Proyecto: (17F009) Potencial efecto antitumoral de Fosfolipasas A2 (PLA2s) de venenos ofídicos del Nordeste Argentino.

### **Resumen:**

En el nordeste argentino la gran mayoría de los envenenamientos por mordedura de serpiente son causados por *Bothrops diporus* "yarará chica". Es un víspido distribuido desde el suroeste de Brasil a través de Paraguay hasta el centro de Argentina. Su veneno está compuesto principalmente por metaloproteasas de tipo PI y PIII (SVMP), fosfolipasas A2 (PLA2s), serinoproteasas (SVSP), L-aminoácido-oxidases (LAOs) y péptidos vasoactivos responsables de sus efectos proteolíticos, hemorrágicos y mióticos. El sistema vascular del embrión de pollo (*G. g. domesticus*), está formado por el corazón y los vasos sanguíneos intraembrionarios y extraembrionarios (membranas corioalantoideas (CAM) y del saco vitelino). Tanto los ensayos realizados en CAM como las pruebas de detección de embriotoxicidad, utilizan este modelo animal. Se ha demostrado que las vías responsables de la receptividad del dolor no se forman por completo hasta el día 13 del desarrollo, por lo que el uso de embriones de pollo desde el día embrionario 0 hasta el día 9 previenen el sufrimiento de los animales en este modelo. Así, este modelo embrionario aplicado a la investigación toxicológica, es un modelo alternativo apropiado en relación con los principios de las 3R (reemplazo, reducción y refinamiento). El objetivo de este trabajo fue revelar los cambios a nivel microscópico inducidos por el veneno de *B. diporus* en el sistema vascular de embriones de pollo, corazón y membranas corioalantoideas. Se trabajó con un pool de venenos desecados, homogeneizados y conservado en a -20°C hasta el momento de ser utilizado en los ensayos. Los huevos de *G. g. domesticus* se limpian con etanol 70% y se incubaron durante cinco días a 37 °C y 60% de humedad. Se realizó rotación periódica de los huevos para prevenir la adhesión de los embriones a las membranas. La fertilidad de los huevos se corroboró mediante el método de inspección a trasluz en ovoscopio. Únicamente los óvulos fecundados con embriones vivos y en desarrollo se seleccionaron como modelo animal. En el día 5 de incubación los huevos fueron retirados de la incubadora y los extremos se limpian nuevamente con etanol 70% luego se les practicó un orificio de 0,5 x 0,5 cm en el extremo romo de la cáscara del huevo directamente por encima del embrión, se les inyectó 1 mL de una solución de veneno de *B. diporus* (1mg/mL) y se cubrió el orificio con papel Parafilm. Este procedimiento se realizó por triplicado (n=3 huevos). A los huevos utilizados como controles se les inyectó solución fisiológica estéril y se los colocaron nuevamente en incubadora. A las 48 h posteriores a la inoculación del veneno se quitó el papel parafilm, se agrandaron los orificios y los embriones fueron retirados de los huevos. La embriotoxicidad del veneno en embriones de pollo se analizó mediante evaluación histológica. Para ello, se realizaron preparados con los embriones de *G. g. domesticus* y sus membranas extraembrionarias, siguiendo las técnicas convencionales de deshidratación, inclusión de cortes y coloración. Se realizó la inclusión en butilo-parafina y las secciones fueron obtenidas con micrótomo, se observó por microscopía y se registraron imágenes. El veneno de *Bothrops diporus* es altamente proteolítico, hemorrágico y miótico. Estos efectos se deben principalmente a las metaloproteasas (SVMPs) y las fosfolipasas A2 (PLA2s). Las SVMPs inducen hemorragia, ampollas, dermonecrosis y degradación de los componentes de la matriz extracelular y proteínas de las membranas celulares. Las PLA2s inducen mionecrosis y también afectan los vasos linfáticos. Esta alteración tan importante del sistema vascular contribuye a la isquemia y posterior necrosis del tejido. En este sentido, específicamente en el tejido cardíaco de la región auricular se apreció desorganización y espacios de pérdida de las fibras musculares. Los capilares se observaron con abundantes prolongaciones y la luz parcialmente ocluida, el grosor de la pared endotelial es variable con núcleos picnóticos. En la región ventricular se observaron áreas de necrosis de las fibras musculares e infiltrado. A nivel de las membranas corioalantoideas se pudo observar un aumento en el grosor del capilar, acompañado por una acidofilia citoplasmática. El daño vascular endotelial ocasionó un intenso edema, los cuales pueden asociarse a fenómenos hipóticos, y estos a su vez, a procesos isquémicos que generaría la muerte celular. En conclusión, el veneno de *Bothrops diporus* induce alteraciones en el sistema vascular del embrión de *Gallus gallus domesticus* que contribuyen en la intoxicación a la isquemia y necrosis del tejido.