

ASPECTOS BIOECOLÓGICOS DE LA ESCOLOPENDRA (*Scolopendra gigantea* LINNAEUS 1758) Y LA ACTIVIDAD HISTOPATOLÓGICA DE SU VENENO

Bioecological Aspects of *Scolopendra* (*Scolopendra gigantea* Linnaeus 1758)
and the Hystopathological Activity of its Venom

Alberto González¹, Alexis Rodríguez-Acosta¹, Julio Gassette¹, Mauricio Ghisoli¹, Enrique sanabria² y Matías Reyes-Lugo¹

¹Instituto de Medicina Tropical, Universidad Central de Venezuela, Apartado 47423. Email: rodrigu@camelot.rect.ucv.ve

²Instituto Anatomopatológico. Caracas 1041, Venezuela.

RESUMEN

Todos los animales colectados provienen del pueblo de Capaya, Distrito Brión, estado Miranda, Venezuela, población asentada en el piedemonte de la vertiente que mira al sur de la Cordillera de la Costa, en una región donde se confunden dos pisos altitudinales, una zona semiselvática, donde predomina la vegetación exuberante de selva macrotérmica, por debajo de los 800 metros sobre el nivel del mar, que se hace mesotérmica nublada por encima de esta altura. La búsqueda de los ejemplares se hizo, explorando los matorrales y escombros, alrededor de las viviendas de ubicación periselvática y utilizando pinzas largas de puntas acolchadas para su captura. Este trabajo, recoge las observaciones biológicas y el estudio histopatológico (microscopía de luz), de tejidos de ratón inoculados con el veneno de *Scolopendra gigantea* Linnaeus 1758. En tejidos musculares estriados fueron observadas fibras con cambios estructurales y se apreciaron fenómenos de rhabdomiolisis. La mayoría de fibras del músculo en todos los campos observados presentaron anomalías severas como atrofia, zonas de necrosis segmentaria, hipercontracción e infiltrados inflamatorios, en algunas de ellas, la hipercontracción dio origen a plegamientos del sarcolemma. El hígado agrandado ligeramente y de color suave y rojizo, sin áreas de hemorragia; su histopatología mostró hepatocitos con degeneración hidrópica y vacuolación fina en áreas de su citoplasma. Se pudo observar también zonas de necrosis muy focalizada.

Palabras clave: Escolopendra, *Scolopendra gigantea*, venenos, rhabdomiolisis, centípedos.

ABSTRACT

All collected animals came from Capaya town. Brión District, Miranda state, Venezuela. Population seated in the piedemonte of the south of Costa range. Two altitudinal levels are described in this region: an area with a exuberant vegetation of macrothermic forest below 800 meters up and a cloudy mesothermic forest from 800 m up. This work shows, besides biological observations, the histopathologic studies in mice tissues which were inoculated with *Scolopendra gigantea* Linnaeus 1758 venom. In striated muscular fibers structural changes were observed. Rhabdomyolysis phenomena were also seen. Most of the muscle fibers had severe abnormalities, such as atrophy, segmental necrosis areas, hypercontraction and inflammatory infiltrated. In some fibers the hipercontraction originated sarcolemma foldings. The liver was lightly enlarged, being soft and reddish color without hemorrhagic areas; its histopathologic revision showed hepatocytes with hydropic degeneration and fine cytoplasmic vacuolation. Focalized necrosis areas were also observed.

Key words: *Scolopendra*, *Scolopendra gigantea*, venom, rhabdomyolysis, centipedes.

INTRODUCCIÓN

Seguramente de los más interesantes y bizarros de todos los millipedos y centípedos son las escolopendras. Esta extraña criatura es peculiar en el mundo de los invertebrados, por ser extremadamente venenosa. Hace muchos años fue considerada miembro de una clase separada llamada Miriápoda, junto a Crustácea, Arácnida e Insecta (Leach, 1814). definiendo 5 géneros: *Scutigera*, *Lithobius*, *Cryptos*, *Geophilus* y *Scolopendra*. Sólo en 1930, se pudo definir un sistema para escolopendra, hasta hoy aceptado, que incluye en el orden Sco-

lopentromorpha: Familia: Scolopendridae; Subfamilia: Scolopendrinae; Tribu: Scolopendriini; Género: *Scolopendra* [3].

El ciempiés, *S. gigantea*, de coloración marrón-negrucada, marrón-rojiza o marrón-verdosa, es la Scolopendridae de mayor tamaño conocida, el tronco tiene aspecto de cinta aplanada, de 10 a 30 cm de longitud. Tiene un cuerpo dividido en dos partes: una cabeza y un tronco, ambas incluidas en un exoesqueleto quitinoso, con un par de antenas compuestas con 17 segmentos y un cuerpo segmentado con 21 pares de patas iguales, excepto el par detrás de la cabeza, que se modifica en forma de garra y los 2 últimos pares dirigidos hacia atrás y a menudo de diferente forma. La cabeza consiste de una placa cefálica o placa dorsal con dos antenas y cuatro ocelos en cada lado. En la parte ventral: un clípeo, las pleuritas cefálicas, el labro, un par de mandíbulas, un par de primeras maxilas y un par de segundas maxilas. Los ciempiés respiran a través de las aperturas llamadas espiráculos, que se localizan entre las capas quitinosas superior e inferior y detrás de las patas. Presentan cámaras traqueales grandes con ramificaciones hacia fuera, para poder proporcionar oxígeno a las distintas partes del cuerpo ubicadas en los segmentos 4, 6, 8, 11, 13, 15, 17, 19, 21 para la *S. gigantea*. Las aperturas son redondas, triangulares o en forma de S. Debido a estas aperturas pierden humedad rápidamente y por ello se deshidratan con facilidad. Todos los ciempiés tienen mandíbulas con glándulas de veneno, con las que lo inyectan para matar su presa [3].

Aunque los ciempiés son predadores y por consiguiente beneficiosos, la mayoría de la población los considera una molestia. Se trata de animales de hábitos terrestres de distribución mundial [12, 14, 15, 17, 18], reportados en distintos ecosistemas de varios países; desde regiones selváticas hasta áreas cuasi-desérticas. Los especímenes se encuentran en microhábitats representados por escombros, en áreas de humedad alta como tierra suelta, leños oodridos, bajo las piedras, pilas de troncos, restos de desechos de la población, pequeñas grietas en el terreno, montones de hojas y recortes de monte, etc., donde se encuentra su presa típica. La mayoría de las veces cerca de las habitaciones humanas, en la cual seguramente han aprendido a medrar de sus desperdicios o a la caza de otros invertebrados, como cucarachas o aún de pequeños mamíferos como ratones. La mayoría de los ciempiés son de hábitos nocturnos, e invaden estructuras caseras, usualmente sótanos húmedos, baños, armarios húmedos, y macetas de plantas. Los ciempiés son principalmente carnívoros y cubren la mayoría de sus necesidades nutricionales de sus presas, aunque algunas especies pueden alimentarse de plantas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Escolopendras

Los ejemplares estudiados provienen de la región de Barlovento, estado Miranda, Venezuela. Todos los datos biológicos

aquí presentados, son producto de experiencias propias, ya que la bibliografía y la información experimental son muy escasas. Diferentes especímenes han sido mantenidos vivos en el laboratorio, para poder observar sus hábitos de vida. En este trabajo, se presenta además un estudio histopatológico de tejidos de ratón inoculados, utilizando la microscopía de luz.

Área de estudio

Todos los animales estudiados provienen de la región de Barlovento, del pueblo de Capaya, Distrito Brión, Edo. Miranda, Venezuela; población asentada en el piedemonte de la vertiente que mira al sur de la Cordillera de la Costa, en una región donde se confunden dos pisos altitudinales: una zona semiselvática, en la cual predomina la vegetación exuberante de selva macrotérmica, por debajo de los 800 metros sobre el nivel del mar, que se hace mesotérmica nublada por encima de esta altura. El área presenta una rica red fluvial, que desciende desde la cordillera, para ir a formar parte de los afluentes del Río Tuy. Existen variaciones de clima relacionadas con la altitud, la abundancia de vegetación y las lluvias. Una segunda zona, el piso tropical, de clima macrotérmico, con temperaturas medias anuales de la zona alrededor de 28°C y precipitaciones pluviales anuales mayores de 2500 mm. En las zonas intermedias y de mayor altura, los tipos climatológicos van hasta el mesotérmico, abundando las lluvias, que pueden llegar hasta promedios de 3000 a 3500 mm al año. El bosque es siempre verde, con características de selva pluvial densa en persistente equilibrio ecológico. La vegetación está representada por árboles corpulentos de distintos géneros y especies, tales como la ceiba (*Ceiba pentandra*), bucare (*Erythrina glauca*), el pan de palo (*Artocarpus altilis*), el samán (*Samanea saman*), el mango (*Mangifera indica*) y arbustos como el cacao (*Theobroma cacao*), platanillos del género *Heliwnia*, *yagrumos* (*Yagruma yagrumo*), etc. Los especímenes se encuentran indiscriminadamente en ambos pisos altitudinales.

Observación bioecológica

Las especies tropicales de escolopendras, ovipositan en la tierra y en sitios abrigados, las especies septentrionales. Las hembras de algunas especies (*Scutigera*), producen hasta 35 huevos en varios días y pueden también vivir hasta 5-6 años en cautiverio.

Veneno

La extracción del veneno se hizo de un lote de 5 ejemplares de *S. Gigantea* recién capturados en el área en estudio. La obtención del veneno se realizó con un método diseñado en el laboratorio de Inmunoquímica del Instituto de Medicina Tropical, UCV, que permitió "ordeñar" cada 5 días. Se introducían los ejemplares en un cilindro de vidrio, dejando la porción cefálica afuera, fijándola con una pieza de cartón en forma de tijera, que mantenía la cabeza sin posibilidad de movimientos. Se colocaba un tubo Eppendorf en cada apertura final del aguijón y con mucha delicadeza se ejercía presión, con una

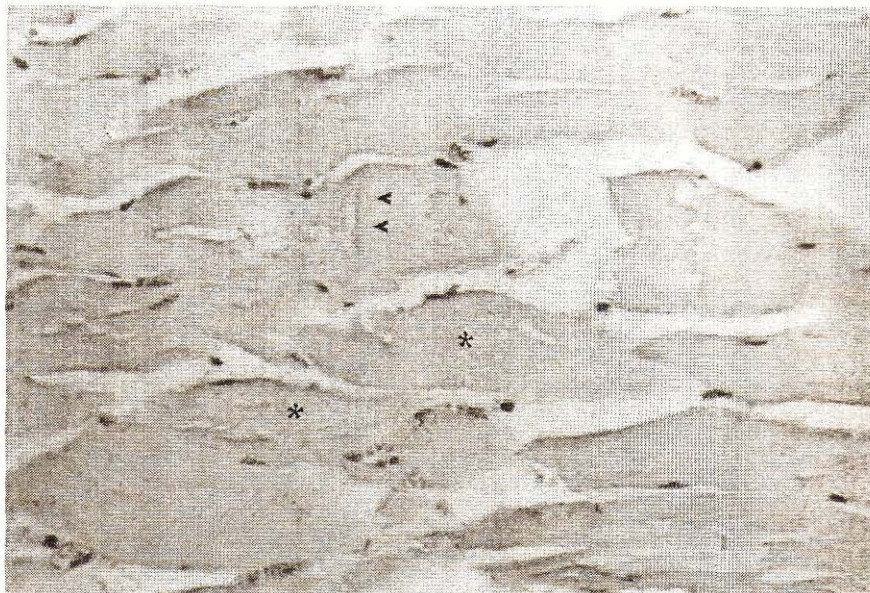


FIGURA 1. TEJIDO MUSCULAR ESTRIADO CON FENÓMENOS DE RABDIOMIOLISIS (puntas de flecha). LA MAYORÍA DE FIBRAS DEL MÚSCULO EN TODOS LOS CAMPOS OBSERVADOS TENÍAN ANORMALIDADES SEVERAS COMO ATROFIA Y NECROSIS (asterisco).

pinza recubierta de goma, en la articulación basal del telopodito. Se obtenían un par de gotas de veneno de color cristalino amarillento, con un volumen de aproximadamente 15 μ L. Se realizaron mezclas de este veneno y se congelaron a -70°C hasta su uso. La concentración proteica del veneno se hizo por el micrométodo de Bradford [2].

Dosis letal 50 (DL50)

La dosis letal 50 fue determinada inoculando intraperitonealmente el veneno de *S. gigantea*, con concentraciones equivalentes a 5, 10, 15 y 20 mg/kg de peso del ratón, usando 8 ratones por cada dilución y calculada de acuerdo al método de Spearman-Kärber [23].

Estudio histopatológico de tejidos de ratón

Ratones adultos machos C57/BI (18-22 g) fueron inyectados intraperitonealmente con una dosis sub-letal del veneno. Los controles recibieron 0,1 mL la solución salina, por la misma vía. Fueron mantenidos a temperatura ambiente y en alimentación y agua ad libitum durante 24 h. La investigación siguió las normas bioéticas tomadas de la guía "Principles of Laboratory Animal Care" [1].

Se tomaron biopsias del músculo *Gastrocnemius* e hígado de los ratones envenenados y controles inoculados en solución salina. Las muestras se fijaron inmediatamente *in situ* con una solución de formaldehído al 10% en PBS tamponado y luego tratadas durante 8 h en tres cambios de etanol desde 70 a 95%. El tejido luego fue embebido en parafina y se hicieron cortes de 3 μ m de espesor, que se montaron en láminas de vidrio y se tiñeron con hematoxilina y eosina para posterior observación [10].

RESULTADOS

La DL50 fue de 15 mg/kg de peso del ratón.

El estudio histopatológico del tejido muscular estriado revisado 24 h posterior a la inoculación intraperitoneal del veneno, presentó fibras con cambios estructurales ligeros caracterizados por fenómenos de rhabdomyolisis, con observaciones de daño severo en algunos campos, caracterizados por atrofia, necrosis, FIG. 1, e infiltrados inflamatorios, FIG. 2. La hipercontracción de las miofibrillas fue un rasgo frecuente, llegando incluso a dar origen a plegamientos del sarcolemma, observándose zonas de necrosis segmentaria, FIG. 3. La observación de los controles de músculo sano, procesado bajo las mismas condiciones que los experimentales, no evidenció ninguno de los daños anteriormente descritos.

El estudio del tejido hepático revisado 24 horas posterior a la inyección intraperitoneal del veneno, reveló un hígado agrandado ligeramente, de color suave rojizo sin áreas de hemorragia. El análisis histopatológico mostró hepatocitos con degeneración hidrópica y vacuolación fina en áreas de su citoplasma, FIG. 4. Se pudo observar también zonas de necrosis muy focalizadas, FIG. 5.

DISCUSIÓN

Se conoce que todos los escolopendromorfos son venenosos, pero no han sido reportados, casos bien documentados de muerte en humanos después de un accidente por escolopendra. Aún que los enormes ejemplares de *S. gigantea* son relativamente poco peligrosos para los humanos. Las picaduras, que en la antigüedad eran raras, hoy en día, debido a la

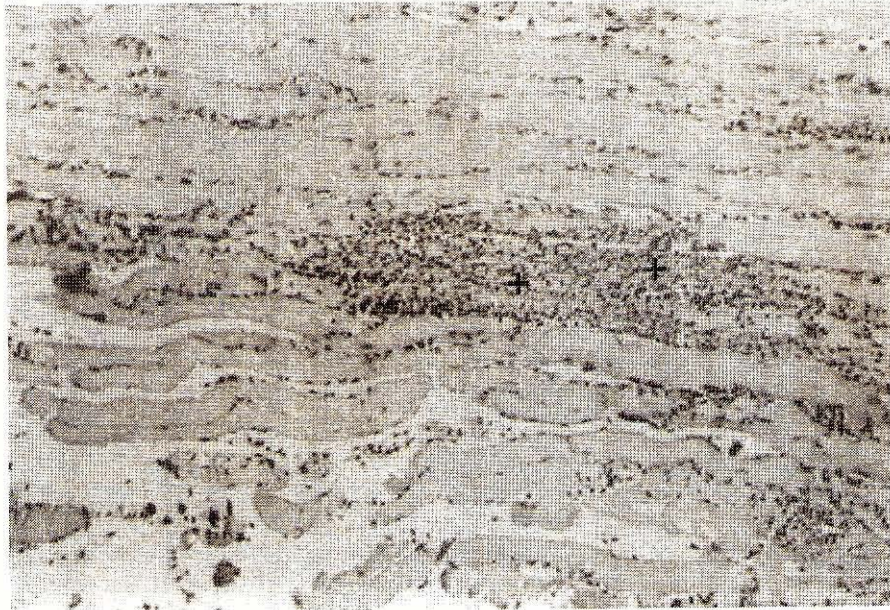


FIGURA 2. TEJIDO MUSCULAR ESTRIADO CON INFILTRADOS INFLAMATORIOS (signo +).



FIGURA 3. HIPERCONTRACCIÓN DE LAS MIOFIBRILLAS (asterisco). HIPERCONTRACCIÓN Y PLEGAMIENTOS DEL SARCOLEMA (círculos). SE OBSERVARON ZONAS DE NECROSIS SEGMENTARIA (puntas de flecha).

invasión de sus hábitat por los humanos, son Observadas más frecuentemente.

No existe un suero antiescolopendra y hasta ahora tampoco en la literatura, estudios sistemáticos desde el punto de vista químico, bioquímico o aún toxicológicos de la constitución del veneno. Sin embargo, algunas especies, contienen histamina, hialuronidasa, poipéptidos, derivados de benzokina y proteinasas [12].

Es conocida la actividad miotóxica de los venenos de serpientes y abejas, inducida principalmente por enzimas de actividad fosfolipásica [13]. Presente también en el veneno de Grotaiidae [11], siendo la fracción más importante la fosfolipa-

sa A2 [7, 8, 19]. En el caso del veneno de *Scolopendra*, el mayor tipo de necrosis de fibra muscular, comienza en el ámbito celular con la presencia de lesiones delta, seguidas por atrofia y fibras con áreas de necrosis segmentaria. La forma dominante de necrosis observada en este estudio podría ser causa da por toxinas de actividad fosfolipásica que están siendo revisadas en un estudio paralelo. Este tipo de mionecrosis podría también desarrollarse a través de un mecanismo indirecto de acción, probablemente hipoxia o isquemia [9], debido al daño de la pared capilar por la presencia de enzimas proteolíticas, descritas en el veneno de escolopendra [12]. La hialuronidasa presente en este veneno [12, 16], es un factor que disemina el veneno y no posee toxicidad local ó sistémica en forma aislada.



FIGURA 4. HEPATOCITOS CON DEGENERACIÓN HIDRÓPICA Y VACUOLACIÓN FINA EN ÁREAS DE SU CITOPLASMA (signo +).



FIGURA 5. SE PUDO OBSERVAR ZONAS DE NECROSIS MUY FOCALIZADA (círculo).

da. La histamina se encuentra en muy bajas cantidades en el veneno seco; su acción química causa dolor local e incremento de la permeabilidad capilar. Esta sustancia es más tóxica en los insectos que en los mamíferos pero todavía no se conoce la LD50 en los animales referidos. Se sospecha que la histamina actúa sinérgicamente con otros componentes del veneno.

El daño del sarcolema se describe también a consecuencia de actividad de toxinas como las proteasas, que inducirían ruptura rápida de membrana plasmática con detnmento subsecuente de su regulación de permeabilidad a los iones y moléculas [7, 19]. La entrada rápida de calcio quizás sería la responsable de la hipercontracción observada en cortes

histológicos de las muestras de tejido muscular [5]. Además, la incorporación incrementada de calcio en las células, puede generar una pérdida de ATP, con activación de hidrolasas/proteasas del hospedador, y daño estructural que lleva a la necrosis [22]. Trump y Berezsky [21] señalan que algunas toxinas inducen activación enzimática de proteasas, nucleasas y lipasas que generan alteración del citoesqueleto que lleva a ruptura de la actina y tubulina.

En varias especies de serpiente, la actividad de su veneno produce severa degeneración grasa con necrosis hepatocelular [4]. La vacuolización observada en las muestras de tejido hepático, cerca de los capilares, sugiere que los compo-

entes del veneno, generaron un proceso localizado de necrosis perivascular. Se han descrito efectos tóxicos de ciertas drogas que causan vacuolización microvesicular difusa de hepatocitos [6]. Las vacuolas observadas en algunos casos parecen ser abiertas al espacio extracelular y se limitan al citoplasma periférico, alrededor del espacio de Disse.

En conclusión los resultados sugieren, tal como lo proponen los autores referidos anteriormente [12], que las proteinasas (ya descritas en el veneno de escolopendras) y la fosfolipasas inducen daño muscular similar al observado por la inyección intraperitoneal en ratones como una consecuencia de un mecanismo directo en el caso de las fosfolipasas o por un mecanismo indirecto, probablemente el de hipoxia/isquemia, que sobreviene en el músculo esquelético, como resultado de lesión de la microvasculaturapor las proteasas.

Los eventos observados parecen indicar que tanto la hipoxia/isquemia y la inflamación tuvieron un rol en la inducción de los daños musculares y hepáticos. Es imposible determinar, estrictamente sobre las bases de los datos obtenidos en este estudio, la exacta causa primaria del considerable daño muscular y hepático observados. Los severos efectos remotos observados en las fibras musculares [20] en los experimentos descritos en este trabajo, pudieran implicar, que cantidades importantes de estas toxinas pueden estar presentes en el veneno de escolopendra, cuyos componentes necesitan ser caracterizados.

AGRADECIMIENTO

Al Instituto Anatomopatológico de la Universidad Central de Venezuela. por su excelente ayuda en el procesamiento de las muestras histopatológicas.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] ANONYMOUS. **Principles** of Laboratory Animal Care. National Institute of Health. USA. Pub. 85-23: 1-112. 1985
- [2] BRADFORD, M.M. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.* 72: 248-254. 1976.
- [3] BÜCHERL, W. Symptomatology, pathology and treatment of snake bites in South America In: *Venomous animals and their venoms*. Eds. Bücherl W, Buckley E. Delofeu V. Academic Press. New York. Vol. 11f 169-196. 1971.
- [4] DE SILVA, H.J.; RATNATUNGA, N.; DE SILVA, U.; KULARATNE, W.N.S.; WIJEWICREMA, R.. Severe faty change with hepatocellular necrosis following bite by a Russell's viper. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.* 86: 565-571. 1992
- [5] DUNCAN, C.J. Role of intracellular calcium in promoting muscle damage: a strategy for controlling the dystrophic condition. *Experientia.* 34: 1531-1540. 1978.
- [6] GHADIALLY, F.N. Mitochondria. In: *Ultrastructural pathology of the cell and matrix*. Eds. Ghadially, F. Butterworth-Heinemann, Boston: 1-450. 1997.
- [7] GUTIERREZ, J.M.; OWNBY, C.L.; ODELL, G.V. Isolation of a myotoxin from Bothrops asper Venom: partial characterization and action on skeletal muscle. *Toxicon.* 22: 115-128. 1984
- [8] GUTIERREZ, J.M.; CHAVES, F.; GENÉ, J.A.; LOMONTE, B.; CAMACHO, Z.; SCHOSINSKY, K. Myonecrosis induced by a basic myotoxin isolated from the venom of the snake Bothrops nummifer (jumping viper) from Costa Rica.. *Toxicon.* 27: 735-746. 1989.
- [9] GUTIERREZ, J.M.; ROMERO, M.; NUÑEZ, J.; CHAVEZ, F.; BORKOW, G.; OVADÍA, M.. Skeletal muscle necrosis and regeneration after injection of BaH1, a hemorrhagic metalloproteinase isolated from the venom of the snake Bothrops asper (Terciopelo). **Exp. Mol. Pathol.**, 62: 28-41. 1995.
- [10] HUMASON, G. Basic procedures. In: *Animal Tissue Techniques*. 4th edition. Freeman Company. Armed Forces Institute of Pathology: 1-84. 1979
- [11] KAISER, I.I.; AIRD, S.D. A crotoxin homologue from the venom of the Uracoan rattlesnake (Crotalus vegrandis). *Toxicon.*, 25; 1113-1118. 1987
- [12] KANO R. *Venomous and poisonous animals of Japan*. Byotai Seiri. 2: 859-870. 1983.
- [13] KOUYOUNDJIAN, J.A.; HARRIS, J.B.; JOHNSON, M.A. Muscle necrosis caused by the subunits of crotoxin. *Toxicon.* 24: 575-583. 1986.
- [14] LIN, T.J.; YANG, C.C.; YANG, G.Y.; GER, J.; TSAI, W.J.; DENG, J.F. Features of centipedes in Taiwan. *Trop. Geogr. Med.* 47: 300-302, 1995.
- [15] MACHADO-ALLISON, A.; RODRÍGUEZ-ACOSTA, A. *Los Animales Venenosos y Ponzosñosos de Venezuela*. 1^{ra} edición. Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico de la Universidad Central de Venezuela. Caracas, Venezuela. 1-108. 1997.
- [16] MOHAMED, A.H.; ABU-SINNA, G.; EL-SHABAKA, H.A.; EL-AAL, A.A. Proteins, lipids, lipoproteins and some enzyme characterizations of the venom extract from the centipede *Scolopendra morsitans*. *Toxicon.* 21: 371-377. 1983.
- [17] MOHRI, S.; SUGIYAMA, A.; SAITO, K.; NAKAJIMA, H. Centipedes bites in Japan. *Cutis.* 47: 189-190. 1991.
- [18] MUMCUOGLU, K.Y.; LEIBOVICI, V. Centipede (*Scolopendra*) bite: a case reperi. *Israel. J. Med. Sc.* 25:47-49. 1989.

- [19] OWNBY, C.L.; COLBERG, T.R. Classification of myonecrosis induced by snake venoms: Venoms from the prairie rattlesnake (*Crotalus viridis viridis*). Western diamondback rattlesnake (*Crotalus atrox*) and the Indian cobra (*Naja naja naja*). *Toxicon*. 26: 459-474. 1988.
- [20] PULIDO-MÉNDEZ, M.; RODRÍGUEZ-ACOSTA, A.; FINOL, H.J.; AGUILAR, I.; GIRON, M.E. Ultrastructural pathology in skeletal muscle of mice envenomed with *Crotalus vegrandis* venom. *J. Submicrosc. Cytol. Pathol.* 31:555-561. 1999.
- [21] TRUMP, B.F.; BEREZESKY, I.K. Cellular and Molecular Basis of Toxic Cell Injury. In: Cardiovascular **Toxicology**. Eds. Trump, B & Berezsky, I.K. Raven Press Ltd, New York: 200-236. 1992.
- [22] TU, A.T. Local tissue damaging (hemorrhage and myonecrosis) toxins from rattlesnake and other pit viper venoms. *J. Toxicol. Toxin. Rev.* 2: 205-234. 1983.
- [23] World Health Organization. **Progress** in the **characterization** of venoms and standardization of **antivenoms**. WHO Offset Publication Nº 58. Geneva: WHO. 23-30. 1985.