

# Consideraciones sobre la farmacología y toxicología del veneno de *Bufo paracnemis* Lutz

Br. Fernando Riet (1)

Trabajo realizado en el Instituto de Farmacología y Med. Exp.  
Fecha de recepción: 15 de Mayo de 1966

## RESUMEN. —

En el veneno granuloso de *Bufo paracnemis* Lutz estarían presentes los elementos siguientes:

- a) Epinefrina
- b) Glucósidos cardíacos (bufadienólidos)
- c) Bufotenina
- d) Triptaminas relacionadas, esteroides, grasas.

Este veneno demostró ser muy tóxico matando lauchas en dosis de 2 mg., 5 mg. por vía intraperitoneal, presentando como síntomas, incoordinación de movimientos, disnea, convulsiones, parálisis, detención primero de la respiración y luego del corazón, a los 10 - 15 minutos.

En perro, por vía oral en una dosis de 200 mg. de veneno global, para un animal de 13 kg. de peso, produjo vómitos repetidos (por acción de los bufadienólidos), recuperándose al final el animal.

En estudios farmacológicos con perro anestesiado con pentobarbital sódico, el veneno de sapo, por vía intravenosa, produjo hipertensión arterial, debida a la adrenalina presente en su secreción, y un estímulo manifiesto de la respiración, (posiblemente por acción de los bufadienólidos).

En órgano aislado (ileon de cobayo), hay una contracción evidente del músculo liso, debida a la acción de la bufotenina, con las primeras aplicaciones del veneno para luego ya no responder más, ni al veneno, ni a la histamina, ni a la pilocarpina.

## INTRODUCCION. —

A consecuencia de la ingestión del veneno de estos batracios, han muerto perros en los departamentos de Salto y Artigas.

(1) Bach. Fernando Riet. — Ayudante de clase del Instituto de Farmacología y Medicina Experimental.

La intoxicación se produce cuando los perros atacan a estos sapos, mordiénolos, lo que provoca la liberación del veneno de sus glándulas cutáneas, el que es deglutido por los canes.

Existen en el norte de nuestro país, además de *Bufo arenarum* H., ejemplares de las especies *Bufo paracnemis* Lutz y *Bufo Marinus*, denominadas estas 2 últimas, vulgarmente como sapos cururú, por los habitantes de esas zonas.

Los hacendados encuentran, por un lado el sapo cururú muerto, destrozado por los dientes del perro, y por el otro, el perro también muerto a consecuencia de la ingestión del veneno. Como síntomas el perro presenta hipersecreción salival, vómitos, violentas convulsiones tónicas, con opistótonos y temblores; intervalos de reposo; el animal puede caminar, sobreviniendo finalmente la parálisis y la muerte.

*Bufo paracnemis* Lutz tiene un tamaño mayor que *Bufo marinus*; aspecto más voluminoso, cabeza más corta. Glándulas paratoides menos salientes, terminadas en punta; patas menos largas; dimorfismo sexual menos acusado.

El cuerpo gris verdoso, con algunas manchas oscuras, que no forman un diseño como en *Bufo marinus* (I). Tienen grandes papilas dorsales, en forma numerosa en la mitad del dorso.

Hembra: largo: 20 cms.; patas posteriores: 19 cms.; patas anteriores: 11 cms.; cabeza: 4,7 cms.; glándulas paratoides: 6 cms.

Macho: largo: 18,5 cms.; patas posteriores: 18,5 cms.; patas anteriores: 9,5cms.; cabeza: 4,8 cms.; glándulas paratoides: 5 cms.

La muerte de perros, en nuestro País a causa de la ingestión del veneno de estos sapos, es lo que ha motivado esta investigación; que comenzó en el año 1961, siguió en el 62, 63, 64 y ahora en el 66, hago el primer comunicado al respecto. Lo difícil que ha sido conseguir ejemplares de estos sapos, fue algo que nos creó muchos problemas.

*Bufo paracnemis* Lutz posee en su piel 2 tipos de glándulas:

- a) glándulas del veneno propiamente dichas, que comprenden las glándulas *paratoides*, detrás de la membrana del tímpano y las glándulas *tibiales posteriores*, situadas a lo largo de la tibia. Presentan en su superficie pequeños orificios o poros que pertenecen a la desembocadura de los canales excretores.
- b) glándulas *mucosas* de Engelmann (I), que son pequeñas glándulas redondas muy numerosas en el dorso, y presentes en forma aislada en la parte ventral del batracio.
- c) Glándulas formando en los dedos de muchos batracios, o en otras partes del cuerpo, excrescencias córneas, de existencia transitoria.

Las glándulas paratoides y tibiales posteriores, las del veneno propiamente dichas, son más desarrolladas en *Bufo paracnemis* Lutz y *Bufo marinus* que en las otras especies de Bufos.

Las glándulas paratoides y tibiales posteriores están formadas por acinos glandulares, de 2 mm. de diámetro, ubicadas en el dermis. Poseen una membrana de naturaleza muscular lisa, con muchos núcleos; el interior de los acinos está ocupado por la secreción finamente granulosa, del veneno ya elaborado.

Rainey fue el primero en señalar la formación del veneno por fusión de los núcleos celulares (1), glándulas holócrinas. El acino está rodeado de fibras musculares lisas, paralelas a sus paredes, espesándose en su polo superior donde forman un esfínter, descrito por primera vez por Schultz, el cual se opone a la salida del veneno, explicando la proyección violenta de éste, cuando se hace presión sobre las glándulas paratoides o tibiales posteriores.

Las glándulas mucosas son pequeñas, provistas de un canal excretor distinto; están formadas por una membrana propia, formada de un epitelio cilíndrico. El contenido es hialino, deprovisto de granulaciones.

Las glándulas paratoides y tibiales posteriores son pasivas; el sapo no puede lanzar por sí mismo el veneno. Solamente cuando el perro lo muerde, presiona estas glándulas venciendo la resistencia del esfínter muscular, saliendo de esta forma el veneno al exterior. Al salir por efecto de la presión externa, el veneno puede ser lanzado hasta 50 cms. de distancia.

Representa un mecanismo pasivo de defensa, no sometido a la voluntad del batracio.

## MATERIAL Y METODO. —

El veneno granuloso se extrajo de las glándulas paratoides y tibiales posteriores por presión con los dedos de las manos.

El veneno tiene el aspecto de un líquido de color blanco amarillento, muy espeso, consistente. Colocado en cápsulas de porcelana se deseca rápidamente en contacto con el aire, adquiriendo una consistencia dura, de costra. Es soluble en agua destilada, siéndolo menos en suero fisiológico.

Las soluciones en agua destilada y suero fisiológico son opalescentes, variando según la concentración.

Con el tiempo estas soluciones adquieren un color rosado.

Las costras secas, de veneno, al pasar los días, se tornan parquizcas.

## TOXICIDAD. —

### a) *Laucha*.

Nº I. Peso laucha: 24,300 grs. Dosis de veneno: 5 mg. en 0,5 cc. de agua destilada, vía intraperitoneal. Sintomatología: 2 min. camina en círculo, incoordinación de movimiento, parálisis, cae en decúbito lateral, comienza a mover rápidamente los miembros; no se puede incorporar; gran dificultad respiratoria; a los 10 mi-

nutos estira vigorosamente los miembros y para la respiración; el corazón sigue latiendo durante un cierto tiempo más. Muerte: 11 minutos.

Nº 2. Peso laucha: 21,550 grs. Dosis veneno granuloso: 2 mg. (1 cc. al 2 ‰ en agua destilada), vía intraperitoneal. Antes de inyectarlo, el veneno se neutralizó con bicarbonato de sodio hasta obtener un pH.7. El veneno da siempre reacción ácida. Sintomatología: 2 minutos disnea, 4 minutos secreción lacrimal, convulsiones, contrae los miembros posteriores, sacudidas violentas, luego parálisis, mayor dificultad respiratoria; la cola adquiere una forma de S; temblores, secreción salival y corrimiento nasal; a los 12 minutos detención de la respiración y muerte.

Las lauchas inyectadas con soluciones de veneno en agua destilada preparadas con 3 o 4 días de anterioridad requirieron el empleo de mayores dosis para producirles la muerte. Lo mismo se ha comprobado cuando se parte de soluciones preparadas con un veneno que tiene algunos días de extraído del sapo, necesiándose dosis mucho mayores para matarlas.

Con soluciones de veneno en agua destilada (de 1 - 4 días), se requirieron 3 dosis diarias de 1 mg. de veneno para matar lauchas de unos 22 grs. de peso, por vía intraperitoneal.

Algunas lauchas inyectadas con soluciones preparadas con veneno de 13 días de extraído, requirieron un total de 9 mg. de veneno para producirles la muerte, administrados en 3 dosis diarias de 3 mg.

Generalmente antes de inyectar las lauchas, las soluciones de veneno se neutralizaron con bicarbonato de sodio.

#### b) *Cobayo.*

Se administró veneno en 2 cobayos solamente.

- 1) Cobayo Nº 1. Peso: 598 grs. Dosis: 2 cc. de veneno al 0,5 ‰ (10 mg.) por vía oral. No se apreciaron síntomas tóxicos
- 2) Cobayo Nº 2. Peso: 675 grs. Dosis: 20 mg. al 0,5 ‰, vía oral. No se apreciaron síntomas tóxicos.

En estos 2 casos se utilizó veneno fresco, extraído el mismo día de su aplicación.

#### c) *Perro.*

Peso 13 kg. Dosis 200 mg. de veneno (40 cc. al 0,5 ‰), vía oral. Se utilizó un veneno con 9 días de extraído, debido a la escasez de sapos.

Síntomas: a los 5 minutos emesis; vómitos repetidos en número de 3 con intervalos de 1 minuto entre uno y otro; continúan el estado nauseoso; a los 15 minutos nuevos vómitos, de consistencia espumosa, de color blanquecino; 25 minutos, nuevos vómitos espumosos; 30 minutos, nuevos vómitos; luego el animal se recupera.

## ESTUDIOS FARMACOLOGICOS. —

### A) *Perro anestesiado. Acciones vasculares y respiratorias.*

Registro presión arterial en la arteria carótida y la respiración con neumógrafo en el torax, conectado con un tambor de Marey.

Perro N° 4. Peso 14 kg., macho. Anestesia: Nembutal, 30 mg./Kg. de peso.

- 1) Se inyectó adrenalina como testigo en la dosis de 0,3 cc. al 1 ‰ vía intravenosa. Hipertensión arterial característica, con la apnea epinefrínica.
- 2) Veneno de las glándulas paratoides de Bufo paracnemis Lutz. Dosis: 2 cc. al 0,5 ‰, en agua destilada, intravenoso. Produjo una hipertensión arterial semejante a la realizada por la epinefrina, con la descarga vagal compensadora. En cambio en la respiración se apreció un estímulo manifiesto de la misma, con aumento de la frecuencia y amplitud de los movimientos respiratorios. (Ver gráfica N° 3). Esta acción no la presenta la adrenalina, lo que nos indica, como se ha comprobado ya, que en la secreción completa del sapo Bufo panacnemis Lutz y Bufo marinus existen otras sustancias con efectos farmacológicos manifiestos.
- 3) A continuación se inyectó Largactil (clorpromacina), 1 ampolla (2 cc. al 2,5 ‰), vía intravenosa. Se inyectó lentamente, produciendo un descenso paulatino de la presión arterial.  
El largactil es un neuroléptico, derivado de la fenotiacina, que además de ser un agente tranquilizante, produce sobre el sistema nervioso autónomo una acción simpaticolítica, anulando e invirtiendo los efectos hipertensores de la adrenalina, la que produce entonces descenso de la presión arterial (efecto beta).
- 4) Adrenalina, intravenosa, misma dosis: 0,3 cc. al 1 ‰. Debido a la acción del bloqueo del largactil, se observa en la gráfica la inversión epinefrínica, dando hipotensión arterial, seguida luego de una recuperación ulterior de la presión. Sobre la respiración no hay ningún cambio visible.
- 5) Veneno de las glándulas paratoides de Bufo paracnemis Lutz: misma dosis 2 cc. al 0,5 ‰ (10 mg.), intravenoso. Se observa una hipotensión arterial que indicaría la presencia de adrenalina en esta secreción de sapo (inversión epinefrínica, acción del componente vasodilatador), para luego elevarse de nuevo y superar el nivel anterior. En cambio en la respiración se mantiene el estímulo respiratorio, con aumento en la amplitud de los movimientos respiratorios. Ver. gráfica N° 3.

Esta gráfica producida por el veneno con aumento en la amplitud y frecuencia de los movimientos respiratorios e hipertensión arterial manifiesta, se repitió siempre en todos los perros inyectados con este compuesto.

En estas mismas condiciones pero cortando los vagos, se observó que el veneno producía un estímulo mucho más amplio y duradero en la respiración.

Otro perro anestesiado con nembutal, se fue inyectando con dosis sucesivas de veneno de *Bufo paracnemis* Lutz hasta que se produjo la muerte del animal, sin que éste presentara ni emesis, ni convulsiones.

b) *Organo aislado.*

Se utilizaron asas de ileon terminal de cobayo sumergidas en Tyrode oxigenado a 38° C. Como puede verse en la gráfica, el veneno de *Bufo paracnemis* Lutz produce contracción manifiesta del músculo liso.

Se sometió al veneno producido por las glándulas paratoides al método de Stas - Otto de extracción de alcaloides y se aplicó el residuo obtenido por este procedimiento en el trozo de intestino a investigar. Residuo obtenido, conteniendo sustancias con reacciones de alcaloides; dosis: 3 gotas al 50 %. Produjo contracción del músculo liso. Se aplicó luego una dosis de 6 gotas más y posteriormente otras 4 gotas, obteniéndose nuevas contracciones del músculo liso; pero después de la 3ª contracción el músculo ya no respondió más. Se le agregó pilocarpina pero tampoco a este alcaloide respondió. Lo mismo sucedió cuando se le agregó posteriormente histamina.

Este mismo fenómeno se produjo con otras asas intestinales de cobayo; al principio se contrae el órgano; pero con dosis sucesivas ya no responde más. (Ver gráfica N° 4).

Con el veneno de sapo completo, al 0,5 % (en agua destilada) en dosis de a 2 gotas también sucede lo mismo.

## DISCUSION. —

El veneno en su conjunto, de las glándulas paratoides y tibiales posteriores, posee los siguientes principios farmacológicos:

- 1) *Epinefrina*: En *Bufo marinus* se encuentra en un porcentaje no mayor del 2 % en las glándulas paratoides.
- 2) *Glucósidos cardiacos*: las geninas o bufadienólidos presentes en los sapos, son esteroides que derivan del ciclopentanoperhidrofenantreno, con una cadena lateral al nivel del carbono con un anillo lactónico no saturado, hexagonal, con 2 dobles enlaces. A estos bufadienólidos se les denominan bufaginas, bufalinas, bufotalinas.

La bufagina se encuentra en parte libre y en parte combinada a una suberylarginina: en este último caso se denomina bufotoxinas (2).

- 3) *Bufoteninas*, que son oxi-indol-etil-aminas. Químicamente la bufotenina es la n-dimetil-serotonina.

Las indol-etil-aminas son bases en parte terciarias y en parte cuaternarias; en éste último caso hablamos de bufotemidinas.

4) *Triptaminas* relacionadas.

5) *Esteroles, grasas, etc.*

De 15 especies de sapos diferentes se aislaron, o las mismas sustancias o sustancias al menos muy semejantes a estas. (2).

Los glucósidos cardíacos o *bufadienólidos* (bufagina, bufalina) producen su efecto principalmente sobre el corazón, además de evidenciar también una acción emética manifiesta, muy evidente en el perro.

Además la bufalina posee una potente acción anestésica local (3), que resultó en experiencias, 90 veces más fuerte que la cocaína.

De un sapo chino (3), se aisló la Resibufogenina, que es un estimulante respiratorio central. Los bufadienólidos, en ciertas especies de sapos, también estimulan los músculos esqueléticos (3).

Se demostró que la Dosis Letal Mínima de bufotalina en el gato fue de 0,00917 mg./Kg., produciendo la detención del corazón en sístole y que la mínima dosis emética es de 0,05 mg. (4).

La bufotenina, o *n-dimetil-serotcnina*, administrada en el perro en dosis de 4 mg./Kg. (5), causa una extensión pseudoparaplégica de los miembros posteriores, salivación, respuesta pilomotora, un aullido especial que puede persistir por 2 horas, indiferente al estímulo nocivo, no realizando el animal ningún acto de defensa cuando es atacado por otros perros.

La inyección intraperitoneal de esta sustancia en las ratas (5) también produce una extensión de los miembros posteriores en una forma pseudoparaplégica y un golpeteo con los miembros anteriores. Además la bufotenina contrae los músculos lisos, se ha demostrado que tiene acción oxitócica. (6).

Bufotenina es una droga alucinatoria. Tanto la bufotenina como la serotonina causan hipotensión arterial en perros y gatos anestesiados con pentobarbital sódico.

En sentido general se puede decir que la acción global de la secreción de las glándulas paratoides de estos sapos produce en los animales una fase corta de agitación, con emesis marcada en el perro, gato, convulsiones, disnea, formas pseudoparaplégicas en los miembros posteriores, depresión, muerte por paro generalmente primero de la respiración y luego del corazón. Una fuerte taquicardia inicial, con disnea, son la regla.

## CONCLUSIONES. —

Luego de las consideraciones sobre las acciones farmacológicas del veneneno presente en las glándulas paratoides y tiroideas posteriores, se puede decir:

- 1) Que la hipertensión arterial producida en el perro a causa de la inyección intravenosa de veneno de *Bufo paracnemis* Lutz, se debe fundamentalmente a la epinefrina presente en la secreción.
- 2) Que se produce la inversión epinefrínica a consecuencia de la administración previa de largactil.
- 3) Que el estímulo respiratorio se debe a la acción de las bufogenina o bufadienólidos presentes en el veneno.
- 4) Que la acción estimulante sobre el músculo liso se debe fundamentalmente a la bufotenina (n-dimentil-serotonina).
- 5) Que la acción tóxica del veneno se debe por una parte a los *bufadienólidos* (bufagina, bufalina) que producen: a) una acción inotrópica sobre el corazón, luego lo intoxica y generalmente lo para en sístole (<sup>4</sup>), (demostrado en el gato); b) una acción emética intensa en el perro, gato, y por otra parte a la *bufotenina* que causa una extensión pseudo parapléjica de los miembros posteriores en el perro, rata, con sacudidas en los miembros anteriores (rata). En lauchas, el veneno de sapo, por vía intraperitoneal, produjo, primero detención de la respiración y luego del corazón.
- 6) En perro anestesiado con nembutal, la muerte se produjo con el veneno sin que éste manifestara ni emesis, ni convulsiones.

#### CONCLUSIONS. —

After the considerations about the pharmacological actions of the poison from the paratoide and rear tibial glands, it can be said:

- 1) That the arterial hipertension produced in dog because of the intravenous injection of *Bufo paracnemis* Lutz poison, depends mainly from the adrenaline present in the secretion.
- 2) That the epinefrinic inversion is produced because of the previous administration of chlorpromacine.
- 3) That the respiratory stimulus is due to the action of bufogenins or bufadienolides which are present in the poison.
- 4) That the stimulating action on the smooth action depends fundamentally on the bufotenine (n-dimethyl-serotonin).
- 5) That the toxic action of the poison is due, on one way to the bufadienolides (bufagina, bufaline) which produce: a) an inotropic action on the heart, afterwards it intoxicates it and usually stops it in systole (<sup>4</sup>) (demonstrated in cat); b) a strong emetic action in dog, cat. On the other way, due to the bufotenine which causes a pseudoparaplegic extension on the rear legs in dog, rat, with shaking of front legs (rat). In mice, the poison of toad, administrated intraperitoneally, produced first detention of breathing and afterwards, of heart.

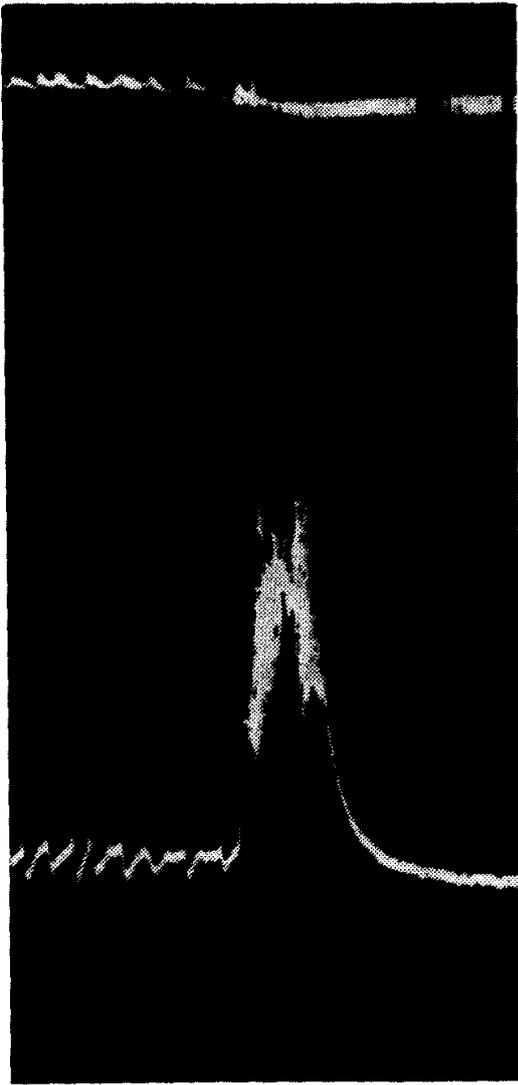
- 6) In dog, anaesthetized with sodic penthobarbital, death was produced by the poison, without evidence of emesis or convulsions.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- 1) BRAZIL VITAL. — Vellard. Contribuicao ao estudo dos batrachios. Memorias Inst. Butantan. Tomo III - Fascículo único. 1926.
- 2) SLOTTA C. H., NEISSER C. — Estudos sobre os venenos de sapos brasileiros. Memorias Inst Butantan. Tomo XI, 1937.
- 3) OKADA MASAHIRO, SAKAI FUMINORI, SUGA TOSHIO. — Pharmacology of the principles isolated from senso, the dried venom of the Chinese Toad. Action of bufogenins and allied compounds on the respiration, blood pressure, and heart. Chemical Abstracts. V-55, b, 16798, 1961.  
KATAOKA HIROSHI. — Local anesthetic and skeletal muscle stimulating actions of bufadienolides and cardenolides. Chemical Abstracts V-55, d, 16798, 1961.
- 4) CHEN-COL. — The poison toad. Vet. Record, July 25th, Nº 30, pág. 468, 1953.
- 5) FABING HOWARD D, HAWKINSROBERT. — Intravenous Bufotenine injection in the human being. Science, Vol. 123, pág. 886, 1956.
- 6) GESSNER PETER, Mc. ISAAC WILLIAM, PAGE IRVINE. — Pharmacological. Actions of some Methoxyindolcalkilamines. Nature, 190, April 8, pág. 179, 1961.



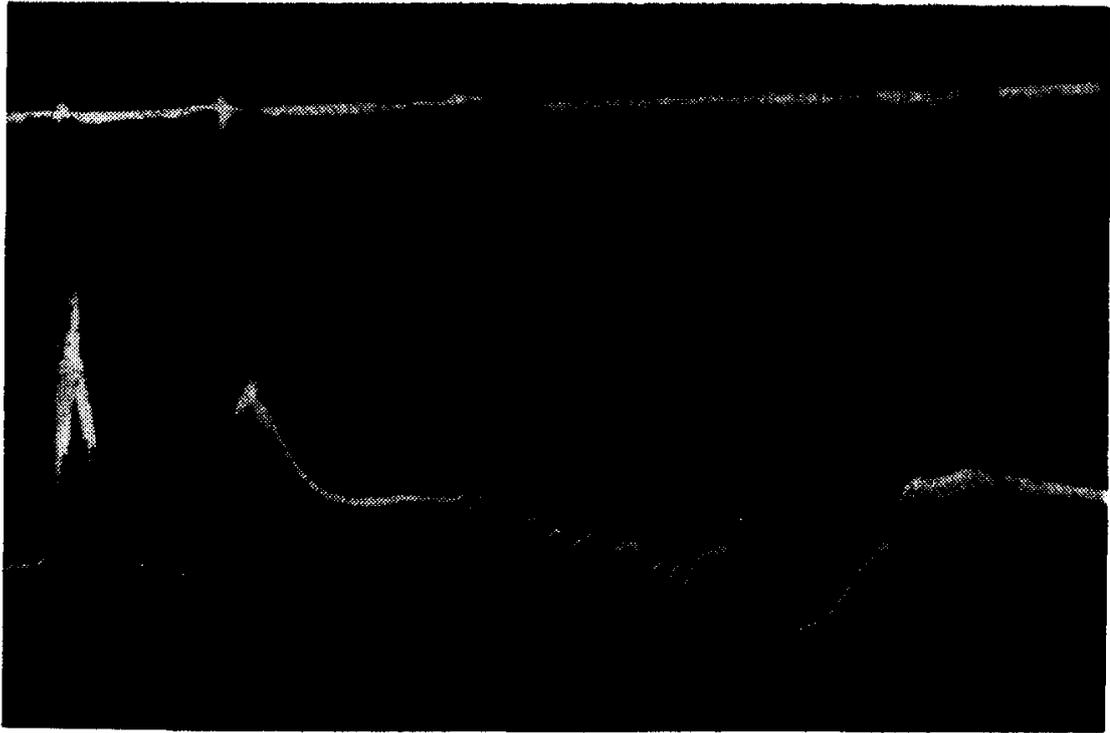
Nº 1 Bufo paracnemis Lutz, hembra



Nº 2 Adrenalina, I. V.  
dosis: 0,3 cc. al 1 ‰



Veneno de sapo, I.V.  
dosis: 2 cc. al 0,5%



Nº 3

- 1) Adrenalina; I.V., dosis: 0,3 cc. al 1 ‰.
- 2) Veneno de sapo: I.V., dosis: 2 cc. al 0,5 ‰. Hipertensión arterial y estímulo de la respiración.
- 3) Clorpromacina, I.V., dosis: 2 cc. al 2,5 ‰.
- 4) Adrenalina misma dosis: inversión epinefrínica.
- 5) Veneno de sapo; presión arterial, inversión epinefrínica. Se mantiene el estímulo sobre la respiración.



Nº 4

Organo aislado. Ileon de cobayo

- 1) Residuo conteniendo alcaloide: 3 gotas al 50 %. Contracción ileon de cobayo.
- 2) Mismo compuesto: 6 gotas; contracción músculo liso.
- 3) Mismo compuesto; 6 gotas; contracción, pero en menor proporción.
- 4) Veneno de sapo; 4 gotas al 0,5 %; ya no produjo efecto.