

## Variaciones hematológicas y de presión sanguínea en perros después de una picadura de abejas

### Hematological and peripheral blood pressure changes in dogs after a bee sting

Jorge Muñoz G,<sup>1</sup> MV, Verónica Arnes V,<sup>1</sup> Tec Med, Marcelo Mieres L,<sup>1</sup> M.Sc, Mirela Noro,<sup>1\*</sup> Ph.D.

<sup>1</sup>Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Veterinarias, Instituto Ciencias Clínicas Veterinarias. Casilla 567, Valdivia, Chile. \*Correspondencia: mirelanoro@gmail.com.

Recibido: Abril de 2011; Aceptado: Febrero de 2012.

#### RESUMEN

**Objetivo.** El objetivo de este estudio fue determinar los cambios hematológicos y de presión arterial en perros después de una picadura cutánea de abejas. **Material y métodos.** Se utilizaron 10 perros adultos, a los cuales se les inoculó veneno de abeja mediante una picadura cutánea controlada. De cada animal se extrajo una muestra de sangre previa y los 15 y 300 minutos post inoculación. Se registró la presión arterial sistólica (PAS), diastólica (PAD), media (PAM) y de pulso (PP) desde 15 minutos previos hasta 45 minutos posteriores a la inoculación. **Resultados.** El recuento de eritrocitos, el hematocrito y la concentración de hemoglobina se redujeron a los 15 minutos post-inoculación ( $p < 0.05$ ), retornando a valores basales al tiempo 300. El recuento de reticulocitos disminuyó al tiempo 15 en relación al tiempo 0 ( $p < 0.05$ ), manteniéndose bajo a los 300 minutos. Se observó una disminución del recuento relativo de eosinófilos a los 300 minutos relación al tiempo 0 ( $p < 0.05$ ). La media de la PAS a los minutos 3, 15, 30 y 39 fueron inferiores a la del minuto -15, y en la PAD, las medias de los minutos 15, 42 y 45 fueron inferiores a del minuto 9 ( $p < 0.05$ ). A su vez, la PAM y la PP permanecieron constantes ( $p > 0.05$ ). **Conclusiones.** La picadura cutánea de abejas produce un descenso transitorio del recuento de eritrocitos, hematocrito y concentración de hemoglobina, junto con una disminución en el recuento de reticulocitos y del recuento relativo de eosinófilos, sin alterar mayormente la presión sanguínea.

**Palabras clave:** Hematología, perros, presión sanguínea, veneno de abeja (*Fuente: MeSH, DeCS*).

#### ABSTRACT

**Objective.** The purpose of this study was to determine changes in hematological parameters and arterial blood pressure in dogs after a bee sting. **Materials and methods.** Ten adult dogs were used, to which bee venom was inoculated through a direct bee sting. Three blood samples were extracted from the animal, the first sample before inoculation, and the other two samples were extracted 15 and 300 minutes after inoculation. Systolic (SAP), diastolic (DAP), mean (MAP) and pulse arterial pressure were also recorded for an hour, from 15 minutes before venom inoculation up to 45 minutes after, at intervals of three minutes between each record. **Results.** The erythrocyte count, hematocrit and hemoglobin concentration at time 15 relative to time 0 ( $p < 0.05$ ), returning to basal values at time 300. The reticulocyte count decreased at 15 minutes in relation to

time 0 ( $p < 0.05$ ), staying low at 300 minutes. White blood cell count showed a decrease in eosinophils at 300 minutes relative to time 0 ( $p < 0.05$ ). Regarding blood pressure, the mean SAP readings on minutes 3, 15, 30 and 39 were lower than minute -15, and the mean DAP readings on minutes 15, 42 and 45 were lower than minute 9 ( $p < 0.05$ ). The MAP and pulse pressure records remained constant ( $p > 0.05$ ). **Conclusions.** A skin deep bee sting can produce a transient decrease in erythrocyte count, hematocrit and hemoglobin, along with a decrease in reticulocyte count and eosinophil relative count, without major alterations in blood pressure.

**Key words:** Bee venom, blood pressure, dogs, hematology (*Sources: MeSH, DeCs*).

## INTRODUCCIÓN

La apiterapia es el uso de productos de las abejas para prevenir, curar o recuperar a un individuo de una o más enfermedades. La aplicación terapéutica del veneno de abejas ha sido usada desde tiempos antiguos, incluyendo la administración a partir de picadura con abejas vivas, inyecciones y acupuntura con veneno de abeja (1). Después de una picadura de abeja, lo primero y más común es el dolor local y la hinchazón. Esta reacción se produce en todos los individuos picados, debido a los componentes vasoactivos del veneno de abeja y no por un mecanismo alérgico (2).

La inyección de veneno de abeja produce dolor tónico e hiperalgesia, pudiendo ejercer al mismo tiempo efectos antiinflamatorios y antinociceptivos en cuadros inflamatorios. En base a esto, la apiterapia ha sido utilizada en la medicina tradicional para el tratamiento de varias enfermedades como artritis, reumatismos, dolor, tumores cancerosos y enfermedades de la piel (3). La terapia con veneno de abejas es curativa y profiláctica, porque además de aliviar diversas enfermedades actúa sobre todo el organismo y aumenta la inmunidad (4). Por otro lado se han descrito efectos adversos como hemólisis en perros atacados por enjambres de abejas (5), desconociéndose el efecto de dosis consideradas terapéuticas de veneno de abejas sobre los parámetros hematológicos y de presión sanguínea en perros.

El objetivo del estudio fue determinar los cambios hematológicos y en la presión sanguínea periférica de perros posterior a una picadura cutánea controlada de abejas.

## MATERIAL Y MÉTODOS

**Animales.** Se utilizaron 10 perros mestizos, 2 machos y 8 hembras, entre 2 a 6 años de edad, y 12 y 24 kg ( $15.6 \pm 4.3$  kg) de peso.

**Aspectos éticos.** El estudio fue realizado acorde a las Normas para la utilización de animales en investigación, según el Comité Uso de Animales en la Investigación de la Universidad Austral de Chile. Para el ensayo se utilizó un pequeño número muestral, además los procedimientos con los animales fueron realizados por un único profesional entrenado para manipulación y obtención de muestras sanguíneas de forma a garantizar el bienestar y no alterar los parámetros fisiológicos. Todos los procedimientos fueron autorizados por los propietarios de los animales.

**Recolección de abejas.** Las abejas *Apis mellifera* fueron obtenidas de una colonia silvestre. Para ello, se utilizó un frasco de boca ancha con un cono de cartón, papel y miel en su interior. Se procedió a la captura de abejas vivas ubicando dicho frasco cerca de la entrada de la colmena, donde las abejas entraban libremente a recolectar la miel, capturándose de esta manera únicamente abejas pecoreadoras. Las abejas fueron capturadas 1 ó 2 días antes de ser utilizadas, manteniéndolas en el frasco hasta su uso.

**Método de inoculación del veneno de abejas.** Con el animal en decúbito esternal o lateral derecho y un bozal, se inoculó veneno de una abeja en el codo izquierdo a través de la picadura directa entre el epicóndilo lateral del húmero y el olecranon, dejando la lanceta inocular veneno durante 3 segundos, para luego ser retirada. Para lograr esto, se colocó un trozo de tela elástica tensado y presionado contra el codo de los perros por sobre el cual se aproximó la abeja para que pique sujetándola por las alas con una pinza hemostática. Una vez clavada la lanceta, se esperó 3 segundos y retiró la tela, arrastrando la lanceta.

**Obtención y procesamiento de las muestras de sangre.** De cada animal se obtuvo una muestra de sangre con EDTA de la vena cefálica del miembro anterior derecho, previo

a la picadura de abeja (tiempo 0; antes de comenzar con las mediciones de la presión sanguínea) y a los 15 y 300 minutos post-inoculación. En las muestras se determinó el recuento de eritrocitos (cámara de Neubauer), hematocrito (microhematocrito), concentración de hemoglobina (cianmetahemoglobina, 546 nm, fotómetro Hitachi® 4020), índices de Wintrobe (volumen corpuscular medio o VCM, concentración de hemoglobina corpuscular media o CHbCM), recuento de leucocitos (cámara Neubauer). El diferencial celular se realizó en frotis teñido con tinción rápida de Corzap®1, Hemogram, Brasil; además se realizó el recuento plaquetario promediando 10 campos del frotis, para obtener el recuento por  $\mu\text{l}$  se multiplicó el resultado por  $20.000 \times 1000 = 20.000$  plaquetas/ $\mu\text{l}$ ) El recuento de reticulocitos se realizó incubando 3 gotas de sangre con EDTA mezcladas con 3 gotas de azul cresil brillante en baño térmico a  $37^\circ\text{C}$  por 15 minutos, posteriormente se realizó un extendido en portaobjeto, el cual fue observado al microscopio (1000x), contando el total de reticulocitos en 10 campos homogéneos. Las variables cualitativas del hemograma se expresaron con el grado de presencia en el frotis: 0= ausencia, 1= presencia escasa, 2= presencia moderada y 3= abundante.

**Medición de la presión.** Se registró la presión arterial sistólica (PAS), diastólica (PAD) y media (PAM) desde 15 minutos antes de la picadura hasta 45 minutos post-picadura con intervalos de 3 minutos, mediante un equipo multiparámetro con oscilómetro, Datascope® Trio™, utilizando una manga pediátrica colocada en el antebrazo izquierdo de los perros, inmediatamente distal al codo. La presión de pulso (PP) fue calculada como la diferencia entre la PAS y la PAD. Para las mediciones, los perros se encontraban en decúbito esternal o lateral derecho en un lugar silencioso, a fin de disminuir el estrés y distracciones.

**Análisis estadístico.** Se realizó un análisis descriptivo, normalidad mediante la prueba de Shapiro-Wilk, y de homocedasticidad mediante la prueba de Bartlett. Las diferencias entre tiempos para las variables paramétricas y homocedásticas se realizaron mediante un modelo lineal AOV/AOCV considerando el animal como un cofactor, y los promedios se contrastaron por la prueba de Tukey. Los datos no paramétricos o heterocedásticos fueron contrastados mediante la prueba de Kruskal-Wallis, a un nivel de significancia del 95% en el programa Statistix® 8.0 (NH Analytical Software, Roseville, MN; USA).

## RESULTADOS

Durante la picadura de la abeja se apreció una breve vocalización en un perro, manifestada con un gemido. Cinco perros reaccionaron levantando la cabeza, mirándose la zona de inoculación, retirando el brazo o intentando ponerse de pie, reacción que no duró más de 5 segundos, mientras que los otros no mostraron reacción durante la inoculación.

**Hemograma.** Posterior a la picadura de abejas el recuento de eritrocitos, el hematocrito y la concentración de hemoglobina disminuyeron ( $p < 0.05$ ), retornando a sus valores basales a los 300 minutos (Tabla 1). El VCM, la CHbCM, la presencia de anisocitosis y policromasia, el recuento plaquetario, la concentración de proteínas plasmáticas totales y fibrinógeno no evidenciaron variaciones posterior a la picadura ( $p > 0.05$ ; Tabla 1). Por otro lado, el recuento de reticulocitos disminuyó a los 15 minutos en relación al tiempo 0 ( $p < 0.05$ ), manteniéndose bajos a los 300 minutos (Tabla 1).

**Tabla 1.** Valores ( $\bar{X} \pm \text{DE}$ ) de las variables del eritrograma previo (tiempo 0) y a los 15 y 300 minutos de una picadura cutánea controlada de abeja en 10 perros.

Tiempo (minutos)	0	15	300	Valor P
Eritrocitos ( $10^6/\mu\text{L}$ )	6.78 $\pm 0.65^a$	6.16 $\pm 0.62^b$	6.72 $\pm 0.64^a$	0.0016
Hematocrito (%)	50.4 $\pm 4.74^a$	45.2 $\pm 3.22^b$	48.6 $\pm 3.98^a$	0.0001
Hemoglobina (g/dL)	17.2 $\pm 2.04^a$	16.0 $\pm 1.74^b$	17.0 $\pm 1.93^a$	0.0105
VCM (fL)	74.6 $\pm 6.82^a$	73.5 $\pm 3.75^a$	72.7 $\pm 4.55^a$	0.6196
CHbCM (g/dL)	34.1 $\pm 2.11^a$	35.4 $\pm 2.14^a$	34.9 $\pm 1.76^a$	0.0656
Anisocitosis (0-3)	1.4 $\pm 0.52^a$	1.4 $\pm 0.52^a$	1.4 $\pm 0.52^a$	0.8013
Policromasia (0-3)	1.3 $\pm 0.48^a$	1.2 $\pm 0.42^a$	1.2 $\pm 0.42^a$	0.3874
Reticulocitos (%)	1.17 $\pm 0.89^a$	0.69 $\pm 0.58^b$	0.74 $\pm 0.66^b$	0.0191
Plaquetas ( $10^3/\mu\text{L}$ )	242 $\pm 89$	275 $\pm 55$	317 $\pm 62$	0.1033
Proteínas (g/L)	68.5 $\pm 8.78^a$	66.0 $\pm 7.83^a$	67.8 $\pm 7.97^a$	0.0570
Fibrinógeno (g/L)	3.2 $\pm 0.42^a$	3.1 $\pm 0.32^a$	3.1 $\pm 0.32^a$	0.3874

a,b diferencias entre tiempos ( $p < 0.05$ ).

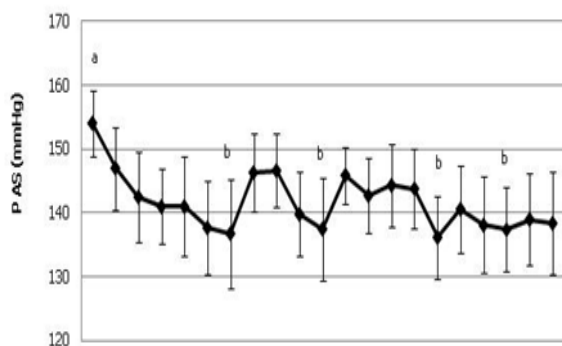
Las variables del leucograma se mantuvieron constantes en el tiempo posterior a la picadura de la abeja ( $p > 0.05$ ), excepto el recuento relativo de eosinófilos, que descendió a los 300 minutos en relación al tiempo 0 ( $p < 0.05$ ; Tabla 2).

**Tabla 2.** Valores ( $\bar{X} \pm DE$ ) de las variables del leucograma previo (tiempo 0) y a los 15 y 300 minutos de una picadura cutánea controlada de abeja en 10 perros.

Tiempo (minutos)	0	15	300	Valor P
Leucocitos (Cél/ $\mu$ L)	10191 $\pm 2570^a$	11603 $\pm 2992^a$	11.492 $\pm 2989^a$	0.1686
<b>Rec. relativo (%)</b>				
Eosinófilos	12.4 $\pm 6.93^a$	10.8 $\pm 5.37^{ab}$	7.1 $\pm 5.26^b$	0.0383
Neutrófilos	62.3 $\pm 9.01^a$	64.7 $\pm 9.27^a$	70.2 $\pm 8.11^a$	0.0772
Linfocitos	15.7 $\pm 4.16^a$	15.4 $\pm 6.65^a$	15.2 $\pm 7.48^a$	0.9794
Monocitos	9.6 $\pm 4.74^a$	9.1 $\pm 4.75^a$	7.5 $\pm 2.8^a$	0.3244
<b>Rec. absoluto (Cél/<math>\mu</math>L)</b>				
Eosinófilos	1250 $\pm 682^a$	1327 $\pm 860^a$	826 $\pm 679^a$	0.0772
Neutrófilos	6328 $\pm 1755^a$	7538 $\pm 2495^a$	8193 $\pm 2819^a$	0.0674
Linfocitos	1601 $\pm 582^a$	1675 $\pm 624^a$	1570 $\pm 571^a$	0.9251
Monocitos	1013 $\pm 666^a$	1063 $\pm 651^a$	902 $\pm 506^a$	0.6195

Rec.= recuento; a,b diferencias entre tiempos ( $p < 0.05$ ).

**Presión.** Los valores de la PAS a los distintos tiempos se mantuvieron constantes, salvo a los 3, 15, 30 y 39 minutos, en que se registraron valores menores al del minuto -15 ( $p < 0.05$ ; Figura 1a), no presentando diferencias con los demás minutos ( $p > 0.05$ ). Similar la PAD se mantuvo constante, salvo a los minutos 15, 42 y 45, los cuales fueron inferiores al registrado en el minuto 9 ( $p < 0.05$ , Figura 1b). Los valores medios de la PAM y de la PP se mantuvieron constantes posterior a la picadura de abejas ( $p > 0.05$ ).

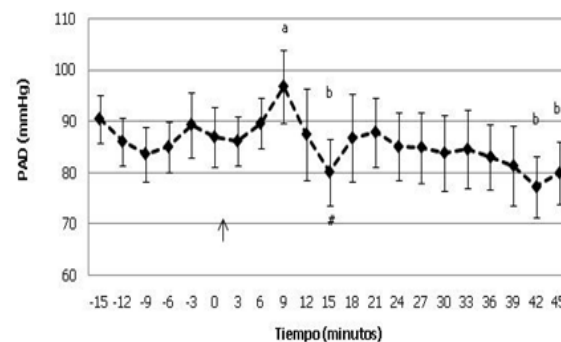


## DISCUSIÓN

Los hallazgos de dolor leve en la mitad de los perros contradice a otro estudio en que indica que todos animales presentan dolor local e hinchazón posterior a una picadura de abeja causada por los componentes vasoactivos del veneno de abeja (2). La mayor responsable del dolor local posterior a la picadura sería la melitina, presente en el veneno de abejas, la cual es capaz de hidrolizar membranas celulares, alterar la permeabilidad celular y causar liberación de histamina. Es por eso que individuos picados por abejas presentan dolor tónico y una breve vocalización (6).

Posterior a la picadura de la abeja ocurrió una disminución transitoria del recuento de eritrocitos, hematocrito y concentración de hemoglobina, observándose además, un descenso sostenido en el recuento de reticulocitos (Tabla 1), al mismo tiempo dentro de los límites de referencia. Estos cambios podrían indicar una redistribución de los eritrocitos hacia el bazo, los cuales a los 300 minutos retornaron a la circulación general (7). El bazo actúa como reservorio de eritrocitos, donde estos pueden quedar atrapados en las trabéculas luego de rezumar a través de los capilares hacia la maya trabecular. Por otro lado se describe que perros atacados por enjambres de abejas presentan anemia macrocítica, anisocitosis, policromasia, metarrubrocitemia moderada asociadas a una hemólisis (5). En estudios realizados *in vitro* con sangre entera de rata con EDTA mezclada con veneno de abejas (1  $\mu$ g/mL de sangre) no se observó variaciones en las variables eritrocitarias (8).

Una disminución en el recuento relativo de eosinófilos (Tabla 2) posterior a la picadura podría deberse a estrés o migración de eosinófilos al tejido donde se produjo la picadura de abeja. Los eosinófilos tienen una especial tendencia a acumularse en los tejidos en que se producen



**Figura 1.** Valores ( $\bar{X} \pm DE$ ) de la presión arterial sistólica (PAS; superior) y diastólica (PAD; inferior) (mm Hg) de 10 caninos adultos sometidos a una picadura cutánea controlada de abeja (tiempo 0).  
a,b $p < 0.05$ ;  $\uparrow$  picadura; # obtención de muestra de sangre.

reacciones alérgicas, como en la piel después de las reacciones alérgicas cutáneas (7). Al respecto, en lesiones inflamatorias podría ocurrir secuestro, degranulación o destrucción de eosinófilos, lo que podría llevar a eosinopenia (9). La melitina es capaz de desencadenar dolor local en la zona de la picadura y adicionalmente induce liberación de catecolaminas (2). El resultado del leucograma indica que el descenso en el porcentaje de eosinófilos podría deberse a la migración de los eosinófilos circulantes al lugar de inoculación del veneno y no al estrés, debido a que no se apreció neutrofilia, linfopenia ni monocitosis (9).

Las variaciones observadas en las variables de presión post-inoculación fueron mínimas (3 mm Hg para la PAS, 2 mm Hg para la PAD y para la PAM, y 1 mm Hg para la presión de pulso), y estarían asociadas a la liberación de catecolaminas e incremento de la actividad simpática por el estrés por miedo y dolor, resultando en un consecuente aumento en la frecuencia cardíaca y en la presión sanguínea (7). Sin embargo, el veneno administrado por vía endovenosa en dosis altas (5 mg/kg) ha generado un descenso progresivo de la presión sanguínea, mientras que al ser administrado en dosis bajas (0.2 a 0.5 mg/kg) ejerció un efecto estimulante sobre el corazón, produciendo un marcado aumento de la presión ventricular izquierda con un leve cambio en la presión aórtica (10).

El veneno de abejas posee quininas entre sus constituyentes, las que influirían en la presión sanguínea, generando hipotensión (11). Por otro lado, individuos alérgicos al veneno de abejas pueden presentar signología cardiovascular al verse expuestos a éste, pudiéndose encontrar signos tales como hipotensión, vasodilatación con hipovolemia secundaria y aumento de la permeabilidad (12). Sin embargo, no se observó signología de alergia en los perros durante el tiempo de seguimiento, así como tampoco cambios significativos en la presión sanguínea.

Las variaciones momentáneas y de baja magnitud en los parámetros hematológicos, y la mantención de la presión sanguínea en perros sometidos a una picadura cutánea de abejas por 3 segundos indica que la misma no fue un factor que generó un estrés significativo en los perros. Se sugiere que la aplicación terapéutica de veneno de abejas a través de la picadura directa con abejas vivas, en microdosis, en perros que no presentan alergia al veneno de abeja, sería un método alternativo seguro para el tratamiento de las enfermedades en que se señala que éste sería efectivo.

Se puede concluir que la picadura cutánea controlada de abejas en perros produce un descenso transitorio del recuento de eritrocitos, hematocrito y concentración de hemoglobina, junto con una disminución en el recuento de reticulocitos y del recuento relativo de eosinófilos, sin alterar mayormente la presión sanguínea.

## REFERENCIAS

1. Lee MS, Pittler MH, Shin BC, Kong JC, Ernst E. Bee venom acupuncture for musculoskeletal pain: a review. *J Pain* 2008; 9 (4):289-297.
2. Fitzgerald KT, Flood AA. Hymenoptera sting. *Clin Tech Small Anim Pract* 2006; 21(4):194-204.
3. Son JS, Lee JW, Lee YH, Song HS, Lee CK, Hong JT. Therapeutic application of anti-arthritis, pain-releasing, and anti-cancer effects of bee venom and its constituent compounds. *Pharm Therap* 2007; 115(2):246-270.
4. Vit P. Productos de la colmena secretados por las abejas: Cera de abejas, jalea real y veneno de abejas. *INHRR* 2005; 36(1):35-42.
5. de Figuera RA, de Souza TM, de Barros CSL. Accidente provocado por picada de abelhas como causa de morte de cães. *Cienc Rural* 2007; 37(2):590-593.
6. Kwon YB, Lee HJ, Han HJ, Mar WC, Kang SK, Yoon OB et al. The water-soluble fraction of bee venom produces antinociceptive and anti-inflammatory effects on rheumatoid arthritis in rats. *Life Sci* 2002; 71(2):191-204.
7. Guyton AC, Hall JE. La Circulación. En: Guyton AC, Hall JE. Editores. *Tratado de Fisiología Médica*. 10ª ed. México, DF: McGraw-Hill Interamericana; 2001. p. 175-222.
8. Zalut S, Nabil Z, Hussein A, Rakha M. Biochemical and haematological studies of some solitary and social bee venoms. *Egypt J Biol* 1999; 1:57-71.

9. Ettinger SJ, Feldman EC. Situaciones asociadas a cambios hematológicos. En: Ettinger SJ, Feldman EC. Editores. Tratado de Medicina Interna Veterinaria. 6ª ed. Madrid: Elsevier; 2007.
10. Kaplinsky E, Ishay J, Ben-Shachar D, Gitter S. Effects of bee (*Apis mellifera*) venom on the electrocardiogram and blood pressure. *Toxicon* 1977; 15(3):251-256.
11. Peña L, Pineda ME, Hernández M, Rodríguez-Acosta A. Toxinas naturales: abejas y sus venenos. *AVFT* 2006; 25(1):6-10.
12. Contreras E, Zuluaga SX, Casas IC. Envenenamiento por múltiples picaduras de abejas y choque anafiláctico secundario: descripción de un caso clínico y revisión de la literatura. *Acta Toxicol Argent* 2008; 16(2):27-32.