

# EFECTO DE LOS IMPACTOS ANTRÓPICOS DEL LAGO DE VALENCIA SOBRE LA ULTRAESTRUCTURA MUSCULAR ESQUELÉTICA DE LA TILAPIA (*OREOCHROMIS MOSSANBICUS*)

## Impacts of anthropic activities in Valencia Lake on Tilapia (*Oreochromis mossambicus*) skeletal muscle ultrastructure

Marinela Barrero<sup>1\*</sup>, Héctor José Finol<sup>\*</sup> y Alfredo Duplat<sup>1\*</sup>

<sup>1\*</sup>Instituto de Ciencia y Tecnología de los Alimentos, Facultad de Ciencias, Universidad Central de Venezuela, Apartado 47097. Los Chaguaramos, Caracas, Venezuela [marinela.barrero@ciens.ucv.ve](mailto:marinela.barrero@ciens.ucv.ve). <sup>\*</sup>Centro de Microscopía Electrónica, Facultad de Ciencias, Universidad Central de Venezuela.

### RESUMEN

El Lago de Valencia es un cuerpo de agua expuesto a un fuerte proceso de contaminación como consecuencia de las actividades humanas e industriales desarrolladas en sus márgenes y del débil recambio de agua. A pesar de este proceso y la prohibición por parte de Ministerio del Poder Popular para el Ambiente, en el Lago de Valencia (Edos. Carabobo y Aragua, Venezuela), se capturan de manera sistemática y se venden grandes cantidades de pescado para consumo humano. El objetivo del presente estudio fue evaluar las posibles alteraciones en la ultraestructura de las fibras musculares esqueléticas, microvasculatura e inervación motora de la musculatura dorsal y caudal de Tilapia (*Oreochromis mossambicus*) por efecto de la contaminación en el Lago de Valencia. Las muestras de los ejemplares analizados presentaron atrofia muscular, cambios mitocondriales, cuadros de necrosis segmentaria, concomitantemente con alteraciones en los capilares intramusculares y en la inervación motora.

**Palabras clave:** *Tilapia*, *Oreochromis mossambicus*, ultraestructura muscular esquelética, contaminación, lago de Valencia.

### ABSTRACT

Valencia Lake is a water body exposed to strong contamination as consequence of human and industrial activities developed in its margins and weak water exchange. Despite this fact and the prohibition by the Ministry of Environment of

fishing on Valencia Lake (Carabobo and Aragua States, Venezuela), great quantities of fishes are captured and sold for human consumption. The aim of this study was to evaluate possible alterations in the ultrastructure of skeletal muscle fibers, microvasculature and motor innervation of Tilapia (*Oreochromis mossambicus*) by contamination in Valencia Lake samples of muscle tissue presented skeletal muscle fiber atrophy, mitochondrial changes and segmental necrosis, as well as intramuscular capillaries and motor nerve alterations lumen occlusion with thickened endothelial wall and motor nerve damage. Showed results could be related to the presence of heavy metals in Valencia Lake, known by their toxicity in vertebrates.

**Key words:** Tilapia, skeletal muscle ultrastructure, Valencia Lake, Contamination.

### INTRODUCCIÓN

La caracterización limnológica de los embalses es una herramienta fundamental para el diseño de políticas de manejo y conservación de los lagos y embalses [15, 18, 20]. Venezuela cuenta con más de 50 embalses [12] empleados para diversos propósitos, tales como la generación de energía hidroeléctrica, el riego con fines agrícolas, el suministro de agua potable a la población, el control de inundaciones y la recreación. Aún cuando el número de estudios de los cuerpos de agua venezolanos se ha incrementado en los últimos años, solo se tiene algún tipo de información limnológica de un bajo número de ellos [15]. El Lago de Valencia es un cuerpo de agua expuesto a un fuerte proceso de contaminación como consecuencia del débil recambio de agua y el contacto directo

con las actividades humanas e industriales desarrolladas en sus márgenes. Existen varias investigaciones que muestran el efecto de los metales pesados (MP) como mercurio (HG), en especies de peces de importancia comercial, como la tilapia (*Oreochromis mossambicus*) [20]. El mercurio es considerado el metal más tóxico y el principal contaminante de ambientes acuáticos y supone un riesgo de enfermedades humanas, debido al consumo de pescados contaminados con este metal [10]. Los efectos del mercurio en peces de agua dulce se demuestran por la inhibición de la síntesis de proteínas y enzimas con grupos sulfidrilos (SH), alteración de órganos y disminución de los mecanismos osmorreguladores. Así también, el cadmio (Cd) es considerado un contaminante ambiental resultado de la industrialización moderna y está presente en las aguas residuales de procesos industriales, representando alta toxicidad, especialmente para los peces. Los MP, incluyendo el Cd, tienen efectos negativos en los peces, tales como: desequilibrio osmótico, afección respiratoria, daños en los tejidos y reducción de los recursos energéticos [2, 10]; Demerdash 1999 citado por Acuña [2] al estudiar el efecto biológico en *Tilapia nilotica* como indicador de contaminación de Cd y Hg, encontró que los peces contenían una acumulación de residuos de Cd y Hg en sus cuerpos 2,5 y 1,9 veces mayor para el Cd y el Hg, respectivamente; en relación a las muestras controles, Arú [3] evaluó el contenido de MP en aguas y peces del embalse de Zuata, (Edo Aragua) indicando que la concentración de los MP en el agua no sobrepasó los valores máximos permitidos por la Agencia de Protección ambiental (EPA) [10] para aguas dulces, por lo que no representaron un riesgo para los humanos por el destino que tienen dichas aguas. En los tejidos, la concentración de los elementos metálicos disminuyó en el siguiente orden  $Cu > Cr > Hg > Ni = Pb = Cd$ , encontrándose todos por debajo de 0,85 mg/Kg. Ziegler [24], al evaluar la distribución estacional del contenido de MP en el lago de Valencia determinó que, el contenido de los metales disueltos en las aguas del Lago no supera los valores máximos especificados en la norma EPA [10] para aguas dulces, ni en los decretos nacionales 3.219 y 883 [8,9], por lo que concluye que estas aguas son aptas para el uso de riego y recreación, contemplados en estas normativas.

Por otra parte, la concentración de los metales en el hígado de los peces capturados fue superior que en el músculo, pero sus concentraciones (Cd y Cu) no superaron los valores máximos permitidos contenidos en el Codex Alimentario [5] y en las normas COVENIN [6, 7]. Sin embargo, las concentraciones de Hg obtenidas en músculo (0,25-0,39 mg Kg<sup>-1</sup>), sobrepasaron el valor máximo permitido por la norma [6] (0,10 mg Kg<sup>-1</sup>) y las de Pb (1,1-1,7 mg Kg<sup>-1</sup>) sobrepasaron el valor máximo establecido por la norma [5] (0,3 mg Kg<sup>-1</sup>). El autor concluyó que, los indicios de bioacumulación de MP, de acuerdo al factor de bioacumulación (FBC), muestran que el consumo de los peces del Lago de Valencia representa un riesgo para la salud humana. Así también, Heredia [15] evaluó el efecto de la dieta sobre la ultraestructura de la musculatura esquelética, el hígado y el ri-

ñón de alevines de pavona (*Astronotus ocellatus*). Se evaluaron cuatro dietas isocalóricas (3.300 kcal de energía metabolizable) y cuatro niveles de proteína bruta (20; 28; 36 y 44%) usando como base proteica la caseína (Fluka), la dextrosa (d-glucosa anhidra) como fuente de carbohidratos y el aceite de maíz (*Zea mays*) como fuente de lípidos, fosfato bicálcico, carbonato de calcio, premezclas de vitaminas y minerales, carboximetilcelulosa como aglutinante y celulosa microcristalina como relleno. El autor concluyó que las dietas produjeron alteraciones en el músculo caracterizado por dilatación de las mitocondrias, envoltura nuclear, aparato de Golgi y componentes de sistema sarcotubular; en el hígado se constató la acumulación de lípidos y desplazamientos de los organelos, y en el riñón se observó la pérdida de interdigitaciones, disminución del retículo plasmático rugoso, y vesiculación.

La tilapia se adapta fácilmente a las condiciones de los diversos cuerpos de agua en que han sido introducidas, tales como arroyos, ríos, lagos, lagunas, presas, estanques, estuarios e incluso hábitats marinos. Acepta con facilidad diferentes tipos de alimento, tanto los producidos naturalmente como los alimentos artificiales (derivados de subproductos agrícolas). Adicionalmente, las tilapias toleran concentraciones de oxígeno bastante bajas, siendo su requerimiento mínimo de 1 mg L<sup>-1</sup> y pH entre 6 y 9, lo que les permite competir con ventajas sobre otras especies [14]. Para 1998, la producción de tilapia en Venezuela había sobrepasado las 2.000 TM y se habían establecido unas 200 granjas tilapicultoras en el territorio venezolano [16]. La introducción de la tilapia al Lago de Valencia, sin haber tomado en cuenta el impacto ecológico que ésta podía causar ha originado la disminución drástica de otras especies ícticas. Para el año 1963 había 37 especies, de las cuales siete presentaban carácter endémico, actualmente sólo se logra capturar tilapia [16]. El objetivo del presente estudio fue evaluar los daños en la ultraestructura de la tilapia proveniente de Lago de Valencia (Edos. Aragua y Carabobo) a causa de los impactos antrópicos.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Como ejemplares representativos del Lago de Valencia se capturaron cinco Tilapias (*Oreochromis mossambicus*) a través de pescadores artesanales mediante redes. Se realizaron cinco muestreos en el lago de Valencia, entre los meses de mayo y noviembre (2011), con cinco ejemplares entre 24 y 31 cm de longitud. Una vez colectados, los peces se lavaron con abundante agua destilada para remover las partículas externas y exceso de *mucus*. Posteriormente se tomaron biopsias de la musculatura dorsal y caudal del ejemplar.

### Procesamiento de las muestras para la microscopía electrónica

Trozos de músculo, de aproximadamente 2 mm de diámetro fueron fijados con glutaraldehído al 3% y tetróxido de

Osmio (OsO<sub>4</sub>) al 1% en buffer fosfato de Millonig (pH 7,8 y 320 mOsm), por 30 min a 4°C, de acuerdo con López y col. [19]. La deshidratación se efectuó en concentraciones crecientes de etanol. Luego de la infiltración con óxido de propileno y la mezcla de óxido de propileno-resina epóxica (1:1) se procedió a incluir el tejido, lo cual se realizó con la resina Embed-812 (EMS, Hatfield Pensilvania EUA), en estufa marca Heraeus 58945 Alemania a 60°C, durante 48h.

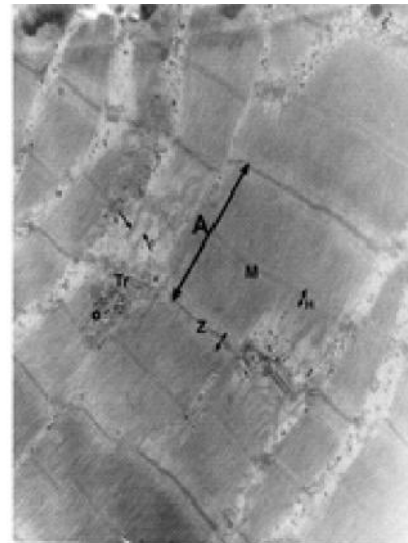
Los bloques fueron cortados en un ultramicrotomo Porter-Blum MT2-B de Sorvall, EUA, contrastados con acetato de uranilo y citrato de plomo. Los cortes se observaron en un microscopio electrónico de Transmisión (MET) marca Jeol JEM-1011, Japón, con voltaje de aceleración de 100 kV.

A fin de comparar los resultados obtenidos en el Lago de Valencia con un control, se empleó un ejemplar de Tilapia (*Oreochromis mossambicus*) cultivado en estanques y en condiciones libres de contaminación, procesándose seguidamente de acuerdo al procedimiento anterior.

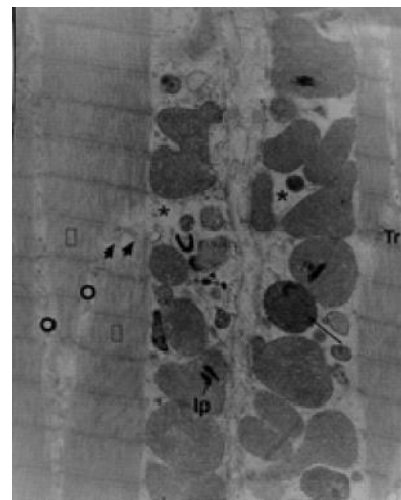
## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos en esta investigación realizada en ejemplares de Tilapia capturados en el Lago de Valencia entre los meses de mayo a noviembre 2011, mostraron diversas alteraciones en la ultraestructura muscular esquelética, incluyendo daños en las fibras musculares, la innervación motora y la microvasculatura. En la muestra de tilapia control (FIG. 1) se observaron miofibrillas con líneas Z de trazado recto y un sistema sarcotubular constituido por túbulos T a nivel de la línea Z, formando con las dos cisternas terminales del retículo sarcoplasmático, las tríadas. La línea Z divide a la banda I en dos porciones, de la misma manera que la banda A se encuentra dividida en dos mitades por la línea M en el centro del sarcómero. Tal descripción corresponde a la de una fibra normal de un pez adulto sin alteraciones [15]. La respuesta a la agresión de los impactos antrópicos por parte de la fibra muscular esquelética de las tilapias provenientes del Lago de Valencia consistió en atrofia y necrosis segmentaria. En el primer caso (FIG. 2) se aprecia el incremento de los espacios intermiofibrilares y subsarcolémicos, con supercontracción de las miofibrillas, por lo cual no es posible visualizar en la micrografía electrónica la línea M y la banda H. Sin embargo, las tríadas aún se pueden localizar a nivel de la línea Z, así como los túbulos longitudinales del retículo sarcoplasmático a nivel de la banda A. En los espacios subsarcolémicos se aprecian numerosas mitocondrias hipertrofiadas y con inclusiones para cristalinias. Una de las mitocondrias de matriz muy electrón densa, perdió parte de su membrana externa, lo que sugiere un proceso de autofagia (FIG. 2).

También se observaron estructuras lisosomales. La atrofia constituye una de las respuestas fundamentales a la agresión, pudiendo encontrarse en su etiología, la alteración o carencia de la innervación motora, con ausencia de sus efectos

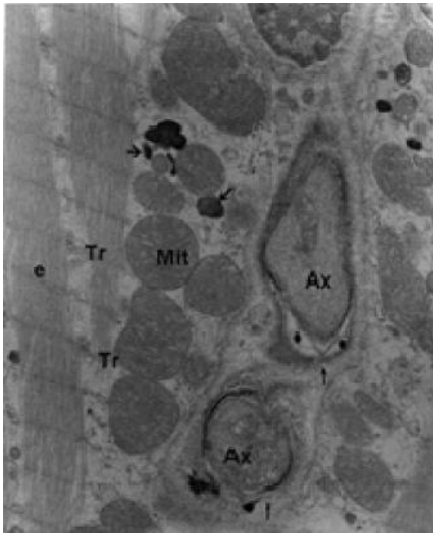


**FIGURA 1. SECCIÓN LONGITUDINAL DE UNA FIBRA MUSCULAR ESQUELÉTICA DE TILAPIA. BANDAS A, H E I, LÍNEAS M Y Z, TRÍADAS (TR), TÚBULOS LONGITUDINALES DEL RETÍCULO SARCOPLASMÁTICO (FLECHAS CORTAS) (X16.000).**



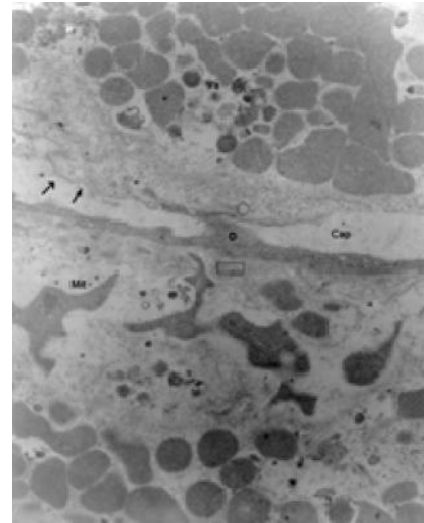
**FIGURA 2. SECCIÓN LONGITUDINAL DE MÚSCULO ESQUELÉTICO DE TILAPIA, CAPTURADA EN EL LAGO DE VALENCIA. ESPACIOS SUBSARCOLÉMICOS (ASTERISCOS) E INTERMIOFIBRILARES (RECTÁNGULOS) AMPLIOS, TÚBULOS LONGITUDINALES DEL RETÍCULO SARCOPLASMÁTICO (FLECHAS CORTAS), TRÍADAS (TR) E INCLUSIONES PARACRISTALINAS (IP), MITOCONDRIA CON MATRIZ DENSA (FLECHA LARGA) (X20.000).**

tróficos y de excitabilidad sobre ese tipo celular. Ello provoca la desorganización y pérdida de los elementos contráctiles con reducción del diámetro de la fibra muscular [11]. En el presente trabajo se encontraron alteraciones en la innervación motora, que incluyeron desorganización axoplasmática con disposición irregular de neurofilamentos y microtúbulos, así como desorganización y pérdida de la vaina de mielina (FIG. 3). En el caso de contaminación se han descrito no solo cuadros de atrofia y autofagia, sino también de hipertrofia, ne-

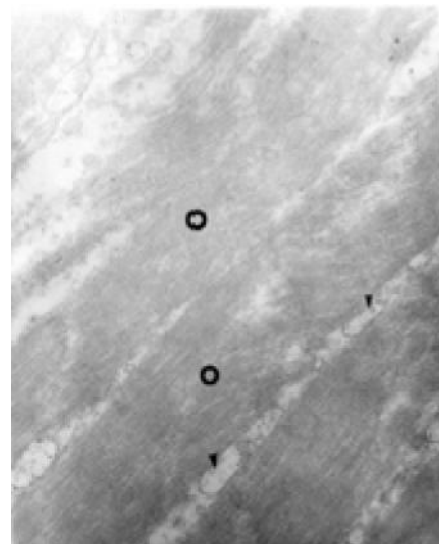


**FIGURA 3. SECCIÓN DEL MÚSCULO DE TILAPIA CAPTURADA EN EL LAGO DE VALENCIA. EN LOS NERVIOS MOTORES SE OBSERVAN PROCESOS DE DESMILINIZACIÓN (÷), PERO CON UN AXÓN QUE LUCE NORMAL. EN LA REGIÓN SUBSARCOLÉMICA AMPLIADA SE APRECIAN VARIAS MEGAMITOCONDRIAS O MITOCONDRIAS HIPERTRÓFICAS (MIT) Y ESTRUCTURAS LISOSOMALES (◐). LAS MIOFIBRILLAS LUCEN CONTRAÍDAS (E) Y EN LOS ESPACIOS INTERMIOFIBRILARES SE OBSERVAN TRIADAS (TR). AUMENTO 20.000 X.**

crisis y regeneración [21, 22] coincidiendo con lo hallado en el presente estudio. En el caso de la necrosis segmentaria (FIG. 4), la primera evidencia de la misma consiste en la pérdida del sarcolema, lo que se continúa con la destrucción de sus sistemas contráctiles y sarcotubulares, en áreas limitadas (segmentos) de la fibra muscular, habiendo dado ello lugar al término de necrosis segmentaria. En esas áreas, adicionalmente a las figuras mielínicas y otros tipos de vacuolas autofágicas y mitocondrias pleomórficas (FIG. 4) se localizan vesículas y vacuolas provenientes del sistema sarcotubular y organelos (FIG. 5), la presencia de cuadros de necrosis segmentaria en las muestras estudiada sugiere que, además del daño a la innervación motora que pudiera explicar la atrofia observada, podrían contribuir a la aparición de los mencionados cuadros, como también las anomalías capilares encontradas (FIGS. 4 y 6). Estas últimas consistieron en el engrosamiento de la pared endotelial y membrana basal, áreas endoteliales de diferente densidad electrónica y oclusión parcial de la luz. Adicionalmente, el número de cavéolas y vesículas pinocíticas lució variable (FIG. 4). Tales cambios no se acompañaron con necrosis capilar, por lo que no se corresponden con procesos autoinmunes que ocurren concomitantemente con procesos de necrosis segmentaria [1, 18, 22]. En el caso de Tilapia es claro que, la atrofia podría atribuirse a la denervación, aún cuando el hallazgo de necrosis segmentaria sugiere que otros procesos podrían complicar la interpretación del cuadro presentado. Al respecto, las últimas investigaciones efectuadas en el Lago de Valencia determinaron que el contenido metálico en las

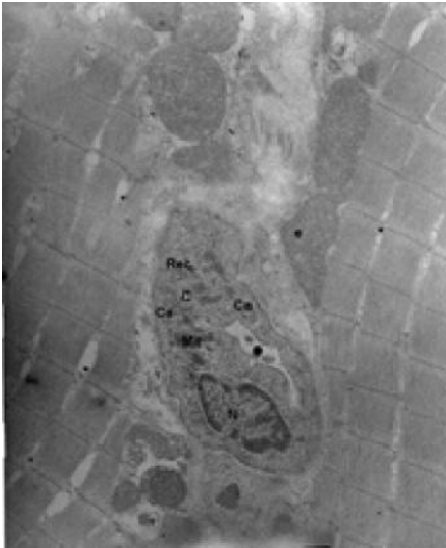


**FIGURA 4. SECCIÓN LONGITUDINAL DE MUSCULATURA ESQUELÉTICA DE TILAPIA, CAPTURADA EN EL LAGO DE VALENCIA. NECROSIS SEGMENTARIA. SE OBSERVAN MITOCONDRIAS BIZARRAS (MIT), VACUOLAS AUTOFÁGICAS (VA), ÁREA DESPROVISTA DE SARCOLEMA (◻◻). CAPILAR CON ÁREA ELECTRÓN DENSA (◉) Y ELECTRÓN TRANSPARENTE (○) MEMBRANA PLASMÁTICA INTERRUMPIDA ENDOTELIAL (○). AUMENTO 12.000 X.**



**FIGURA 5. SECCIÓN DE FIBRA MUSCULAR DE TILAPIA, CAPTURADA EN EL LAGO DE VALENCIA. ÁREAS DE NECROSIS SEGMENTARIA SE OBSERVAN ÁREAS CONTRÁCTIL DESPROVISTAS DE ESTRIBACIÓN SARCOLÉMICO (○) Y CISTERNAS EDEMATIZADAS DEL SISTEMA SARCOTUBULAR (▼). AUMENTO 40.000 X. C).**

muestras de músculo no superó los límites máximos permitidos por las normas COVENIN [3, 4, 7, 8, 13, 23], los presentes resultados podrían sugerir efectos subletales de algunos de esos metales como los demostrados, por ejemplo, en el caso del Hg [19]. Coincidentemente, en este último trabajo se describen alteraciones similares en los capilares que permitieron



## AGRADECIMIENTO

Este Proyecto fue financiado por el Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico de la Universidad Central de Venezuela (CDCH) con el número PG-03-00-6495-2006, titulado Limnología y efecto de los impactos antrópicos sobre los peces de interés comercial del embalse de Zuata (Estado Aragua) y del Lago de Valencia (Edos. Aragua y Carabobo) 2007.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

**FIGURA 6. SECCIÓN DE MÚSCULO DE TILAPIA, CAPTURADA EN EL LAGO DE VALENCIA. SE MUESTRA CAPI-LAR (C) CON CITOPLASMA ENDOTELIAL MUY ENGRO-SADO CON NUCLEOLO (N); CISTERNAS. EN EL MISMO ABUNDAN LAS VESÍCULAS (O) Y LAS CAVEOLAS (CA). RETÍCULO ENDOPLASMÁTICO RUGOSO (RER) Y MITO-CONDRIAS (MIT). NÓTESE QUE LA LUZ ESTÁ CASI OCLUIDA (●), EN LA REGIÓN SUBSARCOLÉMICA DE LA FIBRA MEGAMITOCONDRIAS (E).**

sugerir a los autores que los cambios observados podrían ser secundarios a un daño del nervio motor, siendo atribuidos a isquemia causada por lesión capilar y/o a un efecto directo del Hg sobre las proteínas de la fibra muscular. En ese contexto, es de mencionar el hallazgo de bajas concentraciones de oxígeno en el agua del Lago de Valencia [14], lo cual podría provocar un proceso hipóxico en Tilapia causando daño a su musculatura esquelética. Aru [3] señaló que los sedimentos evaluados en el Lago de Valencia estaban enriquecidos antrópicamente con Co, Zn y Cd, presentando un nivel de contaminación de moderado a fuerte.

## CONCLUSIÓN

Las alteraciones encontradas en la ultraestructura muscular esquelética de Tilapia consistieron en atrofia y necrosis segmentaria de las fibras musculares, pudiendo estar el primer proceso relacionado con el daño observado en la inervación motora de las fibras musculares. Por su parte, la necrosis segmentaria podría haber sido provocada por las anomalías encontradas en la microvasculatura, particularmente con una disminución de cavéolas y vesículas pinocíticas de los capilares. La ausencia de cuadros de necrosis capilar no parece compatible con un proceso autoinmune en Tilapia. Se sugiere que las alteraciones observadas podrían estar relacionadas con la presencia de algunos MP, conocidos por su toxicidad en los vertebrados debido a impactos antrópicos.

- [1] ACEVEDO, L.M.; FINOL, H.J.; SUCRE, L. Patología ultraestructural del músculo "glúteos medius" de caballos criollos en los llanos venezolanos infectados naturalmente por el virus de la anemia infecciosa equina. **Rev. Cientif. FCV-LUZ**. XIX(3): 268-276. 2009.
- [2] ACUÑA, J. Evaluación del contenido de aminoácidos en guabina (*Hoplias malabaricus*, Bloch, 1794), capturadas en el Embalse Hipertrófico de Suata (Edo. Aragua). Universidad Central de Venezuela, Caracas, Venezuela. Tesis de Grado. 65 pp. 2009.
- [3] ARÚ, R. Estudio del contenido de metales pesados en aguas y peces del embalse Suata- Estado Aragua. Universidad Central de Venezuela. Caracas, Venezuela. Tesis de Grado. 30 pp. 2008.
- [4] CAMERO, L.; FINOL, H. Efectos de la toxicidad del cadmio divalente sobre la ultraestructura de la musculatura esquelética de *Poecilia reticulata* (Antheriniformes: Poeciliidae). **Acta Cient. Venez.** 56 (Supl. 1): 106. 2005.
- [5] Codex Alimentarius. Norma general de codex para los contaminantes y las toxinas presentes en los alimentos. Codex Stan 193-1995. Rev. 3-2007.
- [6] COVENIN 1776, Norma Venezolana. Atún en conserva. 3era Rev. 1995.
- [7] COVENIN 1087, Norma Venezolana. Sardinas en conserva. 5ta Rev. 1998.
- [8] CALDERA R. Decreto 883 Gaceta Oficial Extraordinaria 5.021 del 28 de diciembre de 1995.
- [9] CALDERA R. Decreto 3.219 Normas para la Clasificación y Control de Calidad de las aguas de la cuenca del Lago de Valencia. Gaceta Oficial Extraordinaria de Venezuela 5.021. 1999
- [10] UNITED STATES ENVIROMENTAL PROTECTION AGENCY (EPA). National Recommended Water Criteria. 23 pp. 2006.
- [11] FINOL, H.J. Neurotomía y reinervación muscular: aspectos ultraestructurales y dinámicos de la degeneración y la regeneración muscular. Seminario Ingeniería Biomédica. Prótesis y Biomateriales, Simulación y Computación, Instrumentación Biomédica y Bioimpedancia.

- Publicaciones de la Comisión de Estudios Interdisciplinarios. Nº 25. Pp 15-29. 2006.
- [12] GHAZALY, K.S. Hematological and physiological responses to sublethal concentration of cadmium in freshwater teleost *Tilapia zilli*. **Water, Air Soil Poll.** 64: 551-559. 1992.
- [13] GINEZ, A.; OLIVO, M. Inventarios de los embalses con información básica para la actividad piscícola. I. Sinopsis de los embalses administrados por el MARNR. Ministerio del Ambiente y de los Recursos Naturales Renovables. Serie Informes Técnicos DGSP/OA/IT/183. Caracas, 142 pp. 1984.
- [14] GONZÁLEZ, A. Composición química y disponibilidad ambiental de los elementos en los sedimentos del lago de Valencia, edo. Aragua y edo. Carabobo. Universidad Central de Venezuela, Tesis de Grado, Caracas, Venezuela. 32 pp. 2010.
- [15] HEREDIA, B.; FINOL, H. Un tipo de fibra muscular esquelética inusual en peces. **Acta Biol. Venez.** 19(1): 51-58. 1999.
- [16] JORY, D.; CABRERA, T.; POLANCO, B.; SÁNCHEZ, R.; MILLÁN, J.; ROSAS, J.; ALCESTE, C. Aquaculture in Venezuela: perspectives. **Aquac. Mag.** 25 (5): 55-59. 1999.
- [17] LÓPEZ, C.; VILLALOBOS, M.; GONZÁLEZ, E. Estudio sobre el zooplancton de los embalses de Venezuela: Estado actual y recomendaciones para futuras investigaciones. **Cien.** 9: 217-234. 2001.
- [18] MÁRQUEZ, A.; FINOL, H.J.; DE BLANCO, M.C.; ADJOUNIAN, H.; PULIDO-MÉNDEZ, M. Skeletal muscle microvascular alterations in euthyroid and hypothyroid patients with autoimmune Thyroid disease. **J. Submicrosc. Cytol. Pathol.** 38 (2-3):143-148. 2006.
- [19] NADORFY-LÓPEZ, E.; TORRES, S., FINOL; H., MÉNDEZ, M.; BELLO, B. Skeletal muscle abnormalities associated with occupational exposure to mercury vapours. **Histol. Histopathol.** 15: 673-682. 2000.
- [20] PÁEZ, R.; RUIZ, G.; MÁRQUEZ, R.; SOTO, L.; MONTIEL, M.; LÓPEZ, C. Limnological studies on a shallow reservoir in western Venezuela (Tulé reservoir). **Limnol.** 31: 139-145. 2001.
- [21] SEGNINI, M.; PEREIRA, G.; FINOL, H.; MARCANO, S. Cambios en la ultraestructura del músculo esquelético de *Cyprinodon dearborni* inducidos por el extracto de *Fagara monophylla*. **Acta Microsc.** 18 (2):85-88. 2009.
- [22] STORELLI, M.; MARCOTRIGIANO, C. Content of mercury and cadmium in fish (*Thunnus alalunga*) and cephalopods (*Eledone moschata*) from the south-easter Mediterranean Sea", **Food Addit. Contam.** 21: 1051-1056. 2004.
- [23] VILLAR, J. Ultraestructura del músculo esquelético en pacientes con Tiroiditis. Universidad Central de Venezuela. Tesis de Grado. 50 pp. 2011.
- [24] ZIEGLER, K. Distribución espacial y variación estacional del contenido de los metales pesados: Cd, Cr, Cu, Hg, Ni, y Pb en aguas y peces del Lago de Valencia. Universidad Central de Venezuela. Caracas, Venezuela. Tesis de Grado. 39 pp. 2010.