



**TOXICIDAD AGUDA DE LA KARWINSKIA HUMBOLDTIANA  
EN DIFERENTES ESPECIES DE ANIMALES**

**TESIS**

**QUE EN OPCION AL GRADO DE DOCTOR EN MEDICINA**

**PRESENTA :**

**M C P MA. VICTORIA BERMUDEZ BARBA**

**MONTERREY, N. L. FEBRERO DE 1989**

Doc. Med. 16-Mzo-89

BERMUDEZ ROCHA, MARIA VIC

TD  
QP981  
.K37  
B4  
1989  
c.1



1080125968

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN  
FACULTAD DE MEDICINA  
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POST-GRADO

**TOXICIDAD AGUDA DE LA KARWINSKIA HUMBOLOTIANA  
EN DIFERENTES ESPECIES DE ANIMALES**

TESIS QUE EN OPCION AL GRADO DE DOCTOR EN MEDICINA  
PRESENTA LA M. C. P. MA. VICTORIA BERMUDEZ BARBA

TD  
QP981  
K37  
B4  
1989



DEPARTAMENTO DE FARMACOLOGÍA Y TOXICOLOGÍA

ASESORES:

DRA. NOEMI WAKSMAN DE TORRES

DR. ALFREDO PIÑEYRO LÓPEZ





A MI ESPOSO JUSTINO DE JESÚS  
QUIEN ES UN EJEMPLO POR SUS VALORES HUMANOS.  
SU ENTREGA Y DEDICACIÓN PROFESIONAL  
CON TODO MI AMOR

A MIS HIJOS  
JORGE EDUARDO Y LORENA  
POR CUYO AMOR TRATO DE SUPERARME CADA DÍA



A MIS PADRES, JULIÁN Y SOFÍA,  
CON TODA MI ADMIRACIÓN Y RESPETO

A MIS HERMANOS, JULIAN, JESÚS, MA, MAGDALENA,  
CARLOS Y MIGUEL  
CON CARÍÑO

A MIS AMIGOS,  
QUE COMPARTIERON CONMIGO LOS BUENOS  
Y LOS MALOS MOMENTOS, MI AFECTO Y GRATITUD.

LA INVESTIGACIÓN ES UNA EXCURSIÓN EXTRAORDINARIA POR LOS CAMINOS DE LA CIENCIA. EL CIENTIFICO SE PREOCUPA POR ENCONTRAR LA VERDAD Y TRATA DE EXPLICAR LOS FENÓMENOS DE LA NATURALEZA PARA ENTENDER EL SIGNIFICADO DE LA VIDA.

(G. DeIahanty)

### AGRADECIMIENTOS:

Dr. Alfredo Pifeyro López, quien me brindo en todo momento apoyo y estímulo y sin quien no hubiera sido posible iniciar y concluir este trabajo.

Dra. Noemí Waksman de Torres, por su amistad, sus valiosos comentarios y críticas

\* Dr. Francisco J. Martínez, de la Unidad de Hígado, a quien en el transcurso de su colaboración y asesoría en los estudios anatomopatológicos, llegué a apreciar como un gran profesionalista y amigo.

Q.C.B. Martha Elizabeth Salazar, que siempre me brindo su ayuda y colaboración desinteresada.

\* Dr. Alvaro Barboza, del Depto de Patología, por la realización de los estudios neurológicos.

Lic. Elizabeth Blum de De la Parra, Un agradecimiento especial a mi mejor amiga, por realizar el trabajo de mecanografía y por sus palabras de estímulo cuando fueron necesarias.

À TODAS LAS PERSONAS QUE COLABORARON DE FORMA DIRECTA O INDIRECTA EN LA ELABORACION DE ESTE TRABAJO, MI MAS SINCERA GRATITUD.

.

\* Fac. de Medicina y Hospital Universitario, U.A.N.L.

El presente trabajo fue realizado en parte, por la Beca-Crédito Complementaria # 52618 de CONACYT. Mex.

# INDICE

Pag.

INTRODUCCION.....	1
ANTECEDENTES.....	3
Clasificación Taxonómica.....	4
Cuadro Clínico.....	11
HIPOTESIS.....	17
MATERIAL Y METODO.....	18
RESULTADOS.....	22
Cuadro Clínico.....	22
Estudios Anatomopatológicos.....	30
DISCUSION.....	41
CONCLUSIONES.....	48
BIBLIOGRAFIA.....	49

## FIGURAS

Pag.

<u>Fig.1</u> Mapa de la distribución geográfica de la <i>K.humboldtiana</i> .....	2
<u>Fig.2</u> Arbusto.....	6
<u>Fig.3</u> <i>K.humboldtiana</i> en floración.....	7
<u>Figs.4a y 4b.</u> Fruto en sus tres fases.....	8-9
<u>Fig.5</u> Estructura química de las toxinas de <i>K.humboldtiana</i> .....	10
<u>Fig.6</u> Cuadro clínico característico en niña intoxicada.....	12
<u>Fig.7</u> Cuadro clínico observado en animales de experimentación.....	23
<u>Figs. 8a y 8b</u> Rata control y rata intoxicada.....	24
<u>Figs. 9a y 9b</u> Cobayo control y cobayo intoxicado.....	25
<u>Figs. 10a y 10b</u> Hamster control y hamster intoxicado.....	26
<u>Fig. 11</u> Perro control y perro al que se le administró <i>K.h.</i> .....	27
<u>Fig.12</u> Gráfica de pérdida de peso de las especies intoxicadas.....	28
<u>Fig.13</u> Gráfica del porcentaje de mortalidad en horas.....	29
<u>Fig.14</u> Sección de pulmón de rata intoxicada.....	31
<u>Fig.15</u> Sección de hígado de rata intoxicada.....	31
<u>Fig.16</u> Sección de pulmón de cobayo intoxicado.....	33
<u>Fig.17</u> Sección de hígado de cobayo intoxicado.....	33
<u>Fig.18</u> Sección de pulmón de hamster intoxicado.....	34
<u>Fig.19</u> Sección de hígado de hamster intoxicado.....	34
<u>Fig.20</u> Sección de nervio ciático normal.....	35
<u>Fig.21</u> Sección normal de pulmón.....	36

<u>Fig.22</u> Sección normal de hígado.....	36
<u>Fig.23</u> Esquema del probable mecanismo fisiopatológico de muerte.....	45
<u>Fig.24</u> Sección histológica de núcleo gris de rata.....	47

## TABLAS

### Tablas 1, 2 y 3

Lesiones observadas en los diferentes órganos  
de la rata, cobayo y hamster respectivamente.....37

### Tabla 4

Valoración porcentual del daño morfológico.....40

## INTRODUCCION.

Debido a la falta de conocimiento de la distribución geográfica de la *Karwinskia humboldtiana* en nuestro país, la intoxicación con esta planta ha sido tradicionalmente considerada como un problema regional, limitado al Norte y Centro de México. Sin embargo actualmente gracias al Biólogo Fernández Nava (1987), quien nos ha proporcionado el mapa que a continuación mostramos, sabemos que esta planta está prácticamente distribuída en todo el territorio nacional además de en el Sur de Estados Unidos y Centro América. Este conocimiento resulta de gran importancia para hacer un diagnóstico oportuno ante la sospecha de que el paciente haya ingerido el fruto, ya que las manifestaciones clínicas de esta intoxicación la hacen participar en el diagnóstico diferencial con otras entidades parecidas y frecuentes como el Guillain-Barré, la poliomielitis y otras polineuropatías. Experiencias personales me han permitido conocer que en ocasiones esta intoxicación no se diagnostica correctamente o se confunde con las enfermedades señaladas anteriormente; sin embargo, mediante un interrogatorio acucioso, en algunos casos es posible encontrar el antecedente y corroboración de la ingestión del *coyotillo*.

El no disponer de un estudio epidemiológico de la intoxicación y la falta de una adecuada difusión y comunicación tanto en los hospitales urbanos como rurales da por resultado que en Monterrey apenas si tengamos conocimiento de 8 a 10 casos anuales. Este es un dato poco fidedigno si tomamos en cuenta la amplia distribución de la planta en el Estado.

ANTECEDENTES

Los estudios de la distribución geográfica de la K. Humboldtiana en México se remontan a las investigaciones de Humboldt (1807) quien la describió por primera vez en su obra "Voyage de Humboldt et Bonpland en Amérique Méridionale". Posteriormente, en 1845, Schumacher publicó un trabajo sobre la distribución de esta especie en México, donde se mencionan los estados de Yucatán, Chiapas, Guatemala, El Salvador y Honduras. En 1907, Sauer publicó un trabajo sobre la distribución de la K. Humboldtiana en México, donde se mencionan los estados de Yucatán, Chiapas, Guatemala, El Salvador y Honduras. En 1924, Sauer publicó un trabajo sobre la distribución de la K. Humboldtiana en México, donde se mencionan los estados de Yucatán, Chiapas, Guatemala, El Salvador y Honduras.



FIG. 1 DISTRIBUCION GEOGRAFICA DE LA K. HUMBOLDTIANA.



## ANTECEDENTES.

Los efectos tóxicos de la planta fueron descritos por primera vez por el historiador jesuita Don Francisco Javier Clavijero en 1789 en su libro de Historia de la Antigua o Baja California, obra que escribió en Europa después de su expulsión de México en 1767. En dicha obra refiere que: "En varios lugares de la península hay otro arbusto cuyo fruto es redondo, del tamaño de un garbanzo, y negro cuando está maduro. Los indios se abstienen de comerlo porque saben bien que es muy nocivo; pero como sus chiquillos lo ignoran o nada temen, suelen comerlo instigados por el hambre o la golosina. El efecto que les causa es el de tullirse después de pocos días y de aquí sobrevienen otros accidentes que al fin les quitan la vida por cuyo motivo han procurado los misioneros exterminar en todas partes aquella planta. Sin embargo los pericúes comen el fruto sin que les haga daño quitándoles primero la semilla en la cual, según dicen ellos radica todo el mal."

A fines del siglo pasado los Doctores Secundino Sosa, Carlos Quilty (1887) y el Doctor Manuel Godoy y Alvarez (1890) publicaron trabajos relacionados con la tullidora, habiendo llegado a resultados contradictorios entre sí en cuanto a su capacidad de producir parálisis. (Padrón-Puyou, 1956; Padrón y Velázquez, 1956; Segovia, 1972).

En el año de 1895, el poeta potosino Manuel José Othón escribió un cuento titulado "El Pastor Garydón", el cual está inspirado en el conocimiento de los efectos paralizantes de la planta.

La contribución clínica más amplia es la de Castillo Nájera (1918), quien describió detalladamente la tragedia que 106 soldados de la División del Norte sufrieron al intoxicarse con la *tullidora* en Guaymas, Son., muriendo más del 20%. Practicó 3 necropsias y concluyó que la única lesión aparente, existía en nervios periféricos. No pudo apreciar patología alguna en cerebro, meninges ni médula.

Es importante también la mención de otra intoxicación de grupo señalada por el Doctor Vicente Ramírez en el año de 1919, en que un grupo de soldados sufrió los efectos tóxicos de la planta (Padrón y Velázquez, 1956).

#### CLASIFICACION TAXONOMICA.

La *Karwinskia humboldtiana* es un arbusto venenoso cuyo clasificación botánica es la siguiente:

Reino	Vegetal
Tipo	Fanerógamas
Subtipo	Angiospermas
Clase	Dicotiledóneas
Subclase	Dialipétalas
Orden	Rhamnales
Familia	Rhamnaceas
Género	<i>Karwinskia</i>
Especie	<i>Humboldtiana</i>

Se le conoce también con los nombres populares de *coyotillo*, *tullidora*, *capulín tullidor*, *capulincillo*, *cacachila*, *capulín cimarrón*, *coyotillo de Texas*, *chanchanote*, *cacatsín* o *cacapsión* (Martínez, 1944; Padrón-Puyou, 1951; Padrón y Velázquez, 1956).

El arbusto mide de 1 a 3 m de altura (Fig.2), tiene hojas opuestas, simples, oblongas, de 3 a 8 cms de longitud y nervaduras con tintes negros; las flores son de color amarillo (Fig.3). De acuerdo al ciclo climatológico y sobre todo en los meses de noviembre a febrero, da un fruto que cuando está maduro es de color violeta oscuro y mide aproximadamente de 0.5 a 1 cm de diámetro, su endocarpo es leñoso y encierra frecuentemente dos semillas fértiles y dos abortadas; su sabor es dulce debido a la presencia de glucosa en el mesocarpo (Figs.4a y 4b).

Empíricamente el fruto se ha usado contra la epilepsia, tétanos y rabia (Padrón Puyou, 1951). La ingestión de las hojas produce náuseas e irritación gástrica; a las raíces se les atribuyen propiedades antidotaes contra los efectos del fruto, hecho no sólo erróneo, sino peligroso, porque como es sabido, contiene dos de los principios tóxicos (Padrón-Puyou, 1951; Domínguez, 1976; Montoya, 1982).

El principio tóxico se encuentra principalmente en las semillas de donde Dreyer y col. (1975), obtuvieron 4 toxinas que de acuerdo a su peso molecular denominaron T-496, T-514, T-516 y T-544; habiéndolas considerado como neurotoxinas (Fig.5). Químicamente han sido clasificadas como compuestos antracenónicos. Además, se ha demostrado la presencia de T-544 y T-516 en la raíz (Domínguez, 1976) y de la T-496 en las hojas (Guerrero y col., 1987).

Es importante señalar que se ha comprobado una gran variación en la concentración de los compuestos tóxicos en los frutos de distinta procedencia ya que influyen diferentes factores como la época en que se recolecta, la humedad, las características del suelo, la temperatura, la luz, etc. (Carrada y col., 1983). Por otro lado el almacenamiento prolongado (2 años aprox.) le hace perder su actividad tóxica (Weller, 1980).



FIG. 2 ARBUSTO DE LA K.HUMBOLDTIANA.



FIG. 3 *K. HUMBOLDTIANA* EN FLORACION.



FIG. 4a FRUTO DE LA K. HUMBOLDTIANA DONDE SE OBSERVAN LAS 3 FASES: VERDE, SEMIMADURO Y MADURO.



FIG. 4b. FRUTO MADURO DE LA *K. HUMBOLDTIANA* EN EL CUAL SE APRECIA EL TAMAÑO Y LAS SEMILLAS.

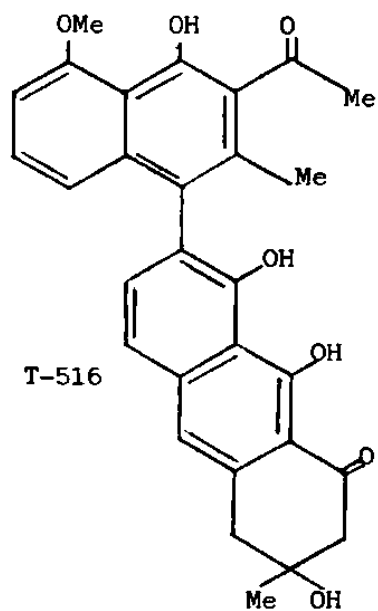
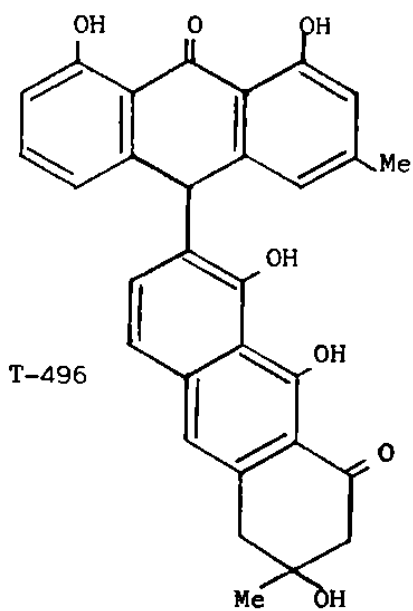
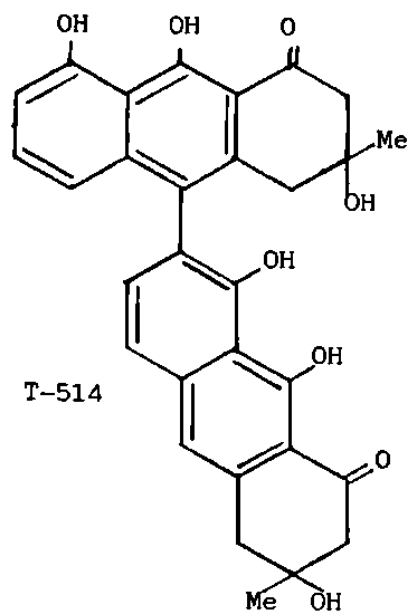
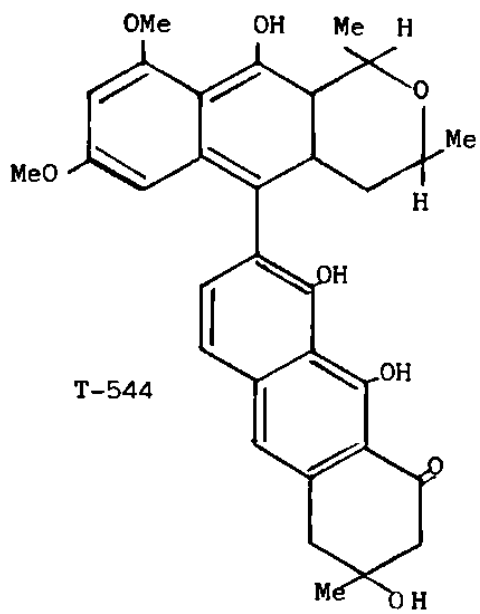


FIG. 5. ESTRUCTURA QUIMICA DE LAS TOXINAS AISLADAS DE LA K.HUMBOLDTIANA.



## CUADRO CLINICO.

La intoxicación ocurre en forma accidental especialmente en los niños entre los tres y los nueve años de edad sobre todo en los meses de invierno que es cuando la planta está llena de fruto.

Tradicionalmente la literatura describe que de dos a cuatro semanas después de la ingestión, se produce una polineuropatía progresiva caracterizada por parálisis simétrica, ascendente, que en los casos leves se limita a miembros inferiores y en los casos graves puede terminar con la muerte por parálisis bulbar (Fig.6). Debido a su semejanza clínica se debe hacer el diagnóstico diferencial con el síndrome de Guillain-Barré, la poliomielitis y otras polineuropatías (Padrón-Puyou.,1951).

La parálisis es al principio espástica y después flácida con hiporreflexia tendinosa, generalmente no es dolorosa y si se presenta dolor es de poca intensidad. Se conserva la sensibilidad al dolor, tacto y temperatura (Padrón Puyou, 1951). Ocasionalmente hay diarrea, vómitos y signos de infección de las vías respiratorias superiores (Carrada y col.,1983) La severidad del cuadro es proporcional a la cantidad y el grado de actividad del fruto ingerido. Si el paciente sobrevive, la recuperación es lenta y la parálisis se vuelve regresiva, en sentido inverso a como se presentó, variando de un enfermo a otro el tiempo de evolución hasta la recuperación completa, que puede ser en un lapso de 3 meses a un año. Cuando la regresión se ha hecho lentamente se producen deformidades particularmente debidas a atrofia muscular por inactividad, dependiendo en términos generales de la extensión y gravedad del ataque inicial. El pronóstico es benigno en cuanto a la vida si no hay ataque al bulbo. No existe a la fecha tratamiento específico y el manejo de los pacientes es



FIG. 6. CUADRO CLINICO CARACTERISTICO EN UNA NIÑA INTOXICADA CON EL FRUTO MADURO DE LA "TULLIDORA". SE OBSERVA PTOSIS PALPEBRAL, CUADRIPLÉJIA Y MANOS EN GARRA.

semejante al de la poliomielitis y otras polineuropatías es decir, sintomático, de sostén y de rehabilitación (Padrón-Puyou, 1950; Escobar y Nieto, 1965; Segovia, 1972; Montoya, 1982).

La base histológica de la lesión neurológica ha sido identificada como una desmielinización segmentaria acompañada de degeneración walleriana (Escobar y Nieto, 1965; Charlton y Pierce, 1970; Mitchell y col., 1978).

No se conoce el mecanismo íntimo de la desmielinización, pero por la semejanza que guarda con otras polineuropatías como las causadas por el plomo y la toxina diftérica (Montoya, 1982), es posible suponer que las toxinas de ésta actúen de una manera muy similar. Se cree que la acción primaria de las toxinas de la *K.humboldtiana* se produce sobre las células de Schwann por interferencia en el metabolismo energético e inhibición en la síntesis de proteínas que culmina en desmielinización (Escobar y Nieto, 1965; Charlton y Pierce, 1970). El tiempo que lleva a alterar el metabolismo de las células de Schwann hasta el rompimiento de las hojas de mielina explica el tiempo de latencia observado en estas polineuropatías entre la exposición al agente y la iniciación de los síntomas (Mitchell y col., 1978).

La mayor parte de los experimentos con *Karwinskia humboldtiana* han sido llevados a cabo básicamente en el campo de la Veterinaria, ya que son las especies productivas las que sufren con mayor frecuencia la intoxicación, ocasionando grandes pérdidas económicas. Muchas especies son afectadas incluyendo cabras, borregos, pollos, conejos, cuyos, ratas, ratones, etc. (Dollahite, 1965; Charlton y Pierce, 1970) pero hay reportes confusos en relación al perro (Weller, 1980). Sin embargo, la susceptibilidad reportada en las diversas especies difiere.

Por ser la sintomatología predominantemente neurológica, los investigadores han enfocado sus estudios principalmente a las alteraciones del sistema nervioso periférico, por lo que existen numerosos reportes al respecto; en tanto que a nivel de sistema nervioso central existen pocos estudios. La causa de muerte propuesta en la literatura siempre ha sido atribuida a una parálisis bulbar. Llamam la atención los reportes de Castillo Nájera (1918), Padrón-Puyou (1951, 1956), Del Pozo (1965) y más recientemente Carrada (1983) y Puértolos (1984) entre otros, quienes mencionan que cuando la ingestión del fruto es abundante, tanto el hombre como los animales mueren en un lapso de 24 a 48 hs sin presentar el cuadro neurológico característico de esta intoxicación. Estos autores, sin embargo, no dan ninguna interpretación a sus observaciones. A pesar de esto, son pocos los investigadores que han estudiado los efectos tóxicos de la planta fuera del sistema nervioso y las observaciones del daño en órganos parenquimatosos se han realizado cuando la parálisis ya se ha establecido. No se encontró ningún reporte de estudios orientados al daño parenquimatoso en casos de intoxicación aguda.

Hay reportes de borregos intoxicados con el fruto en los cuales se observaron cambios grasos y necrosis del hígado, músculo esquelético y corazón, así como también inflamación de la mucosa gástrica, además se describe necrosis centrilobulillar en el hígado de cabras intoxicadas (Dewan, 1965). Dollahite (1965) reporta en un estudio que realizó en cabras y borregos edema pulmonar severo, degeneración hialina y granular en músculo esquelético y cardiaco y necrosis centrilobulillar, además lesión renal que consistió en degeneración hidrópica y grasa. No detectó lesiones en cerebro pero sí desmielinización en nervios periféricos.

Bustamante (1978) señala el caso de una paciente embarazada que se intoxicó accidentalmente al ingerir el fruto del *capulín tullidor*; al mes presentó cuadriplejia con disnea marcada y finalmente murió. La autopsia reveló pulmones con aumento de la consistencia y con áreas focales de color rojo obscuro en la periferia de ambos lóbulos. El corazón mostraba dilatación de cavidades derechas e hipertrofia de cavidades izquierdas. El encéfalo presentó aumento de volumen de la sustancia blanca de ambos hemisferios cerebrales. Los cortes histológicos de los pulmones mostraron zonas de hemorragia alveolar. En los cortes de raíces nerviosas motoras se observó disminución del calibre y aumento de células de Schwann. Las neuronas de las astas anteriores de la médula espinal mostraron citoplasma claro con rechazamiento del núcleo hacia la periferia que se interpretaron como cambios de reacción axonal. Los diagnósticos principales fueron síndrome de Guillain-Barré de 4 meses de evolución, bronconeumonía bilateral e infartos pulmonares múltiples.

Posteriormente, Bustamante se enteró de que la paciente había ingerido el fruto de *K.humboldtiana* por confusión, posiblemente en una sola dosis, pero al igual que otros investigadores dirigió su atención básicamente a la lesión neurológica, sin darle mayor importancia a los hallazgos reportados en órganos parenquimatosos.

Como antecedente directo de esta tesis, se encuentra un estudio experimental de intoxicación aguda en ratones cepa CD1, que realizamos con frutos de *K.humboldtiana* y con toxinas aisladas de los mismos en nuestro laboratorio (Bermúdez y col., 1986). Se comparó la toxicidad del fruto verde (el cual contenía 0.96% de T-544 y 0.80% de T-514) versus fruto maduro (que contenía 0.88% de T-544 y 0.90% de T-514), así como también de las

toxinas purificadas T-544 frente a la T-514. Deseo hacer notar que habitualmente los estudios con fruto reportados en la literatura han sido llevados a cabo sin conocerse el contenido de toxinas. Dada la amplia variación observada en la concentración de los compuestos tóxicos en frutos de distinta procedencia, antes del ensayo toxicológico se cuantificaron las toxinas presentes (Guerrero y col., 1987).

En el estudio mencionado, no observamos el cuadro neurológico característico, ni con las toxinas, ni con los frutos cuando los animales murieron en las primeras 48 hs; pero sí encontramos alteraciones anatomopatológicas importantes sobre todo en hígado y pulmón, las cuales consistieron en necrosis centrilobulillar y microhemorragia pulmonar severa. En riñón sólo encontramos congestión vascular y lesión tubular en algunos casos; en corazón sólo se observó en forma inconstante una discreta congestión vascular. Estas observaciones coinciden con las reportadas por los autores antes mencionados.

Las lesiones parenquimatosas fueron más marcadas con la T-514, sobre todo en hígado y pulmón que con la T-544. A nivel clínico y anatomopatológico encontramos, tanto con las toxinas aisladas como con los frutos, un cuadro semejante al de una insuficiencia hepatopulmonar severa que puede ser considerada como la causa de la muerte cuando la ingestión del fruto es masiva.

Debido a que los hallazgos reportados ocurrieron en ratones, nos preguntamos si se trataba de una respuesta propia de la especie o si era generalizable a otras, inclusive al hombre. De aquí surge la hipótesis de mi trabajo de tesis.

## HIPOTESIS

En la intoxicación aguda por *Karwinskia humboldtiana*, la muerte puede ocurrir por lesiones diferentes a las descritas tradicionalmente en el sistema nervioso.

## MATERIAL Y METODO

Para llevar a cabo este estudio se eligieron las siguientes especies: rata Wistar (*Rattus, norvegicus*), hamster (*Cricetus, cricetus*), cobayo cepa Hartley (*Cavia cutleri*) y perro raza Beagle (*Cannis familiaris*).

En la siguiente tabla se muestra el número, peso y sexo de cada especie.

Especie	Num.	Peso	Sexo	
			f	m
Rata	8 *	160-180g	4	4
Hamster	8 *	140-150g	4	4
Cobayo	8 *	240-260g	4	4
Perro	8 *	6-8 Kg	4	4

\* Igual número de animales se utilizaron como testigos, excepto en el perro donde fue la mitad.

La intoxicación se produjo con el fruto maduro de la *K. humboldtiana* recolectado en la región de Villa de García, N.L. en diciembre de 1985. Por medio de espectrofotometría de reflectancia en capa fina se cuantificaron las toxinas de este fruto: 0.70% de T-544, 0.29% de T-514 y 0.36% de T-496.



El procedimiento que se efectuó en la rata, hamster y cobayo fue el siguiente:

Previo ayuno de 12 hs, y mantenidos en el laboratorio bajo condiciones estándar, se les administró por vía oral mediante una sonda esofágica una dosis única de 5 g/Kg de peso corporal de fruto maduro, previamente secado, molido y cribado en malla 100x100 en suspensión acuosa. El volumen administrado fue de 2 a 3 ml. A los controles se les dió solamente agua estéril. Se determinó un período de observación de 4 semanas durante el cual se evaluó el cuadro clínico y se hizo un registro diario del peso y mortalidad de los animales. Se realizaron necropsias inmediatamente después de la muerte de cada animal para el examen macro y microscópico de hígado, pulmón, riñón, corazón, bazo y nervio ciático. Se tomaron muestras representativas de cada uno de estos órganos para su estudio anatomopatológico. Los tejidos fueron fijados en formol al 10% amortiguado con sales de fosfato incluidos en parafina, seccionados a 6-8 micras y teñidos con hematoxilina y eosina.

Además, para el nervio ciático se utilizó la técnica especial para el estudio de la mielina descrita por Klüver-Barrera en 1960. Los controles se sacrificaron con pentobarbital sódico intraperitoneal para realizar las necropsias correspondientes.

Estudios preliminares demostraron que no era posible seguir la misma metodología con el perro que con las otras especies, ya que al administrar el fruto maduro en una dosis única, se presentaba vómito y diarrea aproximadamente a la media hora de su administración. La única forma de evitar estos efectos, fue fraccionar la dosis en 6 tomas, administrándolas en un volumen de 30 ml cada hora. Se utilizó solamente una jeringa de 20 ml, sin necesidad de usar sonda esofágica. Las primeras 48 hs los perros estuvieron bajo observación continua, para tener la seguridad de haber evitado la eliminación del tóxico a través del vómito o la diarrea. Por ser una especie mayor, el

período de observación se prolongó hasta 8 semanas, al final de las cuales los animales fueron sacrificados con pentobarbital sódico intraperitoneal; se realizaron las necropsias correspondientes y se tomaron muestras representativas de los órganos ya señalados para su estudio anatomopatológico.

La evaluación estadística del daño morfológico se realizó mediante la Prueba Exacta de Fisher, y los criterios para catalogar la lesión morfológica en reversible o irreversible se eligieron de acuerdo a Kerr (1971), Curran y Harnden (1972), de donde se deriva el siguiente esquema:

#### LESIONES IRREVERSIBLES

Organo	Tipo	Extensión
Pulmón	Necrosis y Edema Necrosis y hemorragia	Masiva
Hígado	Necrosis acidófila hepatocelular Infarto y congestión hepática.	Masiva Centrilobulillar Zonal Media Masiva

#### LESIONES REVERSIBLES

Organo	Tipo	Extensión
Pulmón	Atelectasia y congestión	Segmentaria
Hígado	Congestión y edema celular sinusoidal	Focal
Riñón	Degeneración hidrópica tubular. Congestión venocapilar e intersticial mínima a moderada.	Focal

La valoración del daño porcentual para lesiones reversibles e irreversibles producidas por la administración del fruto maduro de *K.humboldtiana* en diversas especies de animales, se realizó mediante el siguiente procedimiento:

1.- Examen microscópico de 88 órganos al procesar 176 laminillas que contenían 352 cortes teñidos con hematoxilina y eosina.

2.- Se tomaron 10 campos de microscopio de cada laminilla, como un total del 100% del área examinada para obtener el daño porcentual. El examen se realizó por duplicado.

3.- Cada laminilla se dividió en 4 cuadrantes los cuales sumaban 2.5% del total de observaciones y se realizó una suma del área afectada por la lesión, cuando así se encontró.

4.-Todas las observaciones se realizaron a un aumento de 40X de la lente objetivo con microscopio Standard Karl Zeiss de luz transmitida con campo claro modelo K-7D.

## RESULTADOS

### CUADRO CLINICO

A excepción del perro, en el cual no se logró observar ningún signo de intoxicación durante todo el experimento, las otras especies presentaron debilidad marcada, disnea, pérdida de la actividad espontánea, hiporreflexia, temblor, ataxia, pérdida de peso y piloerección (Fig 7).

Es interesante señalar que todos los cobayos presentaron convulsiones previas a la muerte mientras que éstas se observaron solamente en algunas ratas y hamsters.

Los controles se mantuvieron asintomáticos durante todo el experimento. Se muestran fotografías en las que resulta evidente la diferencia entre éstos y los animales que sufrieron la intoxicación con excepción del perro (Figs. 8a y 8b, 9a y 9b, 10a y 10b, 11).

La pérdida de peso fue más marcada en la rata, con una disminución de  $24.27\% \pm 3.25$ ; le siguió el hamster con una pérdida de  $12.15\% \pm 1.65$  y por último el cobayo con  $6.28\% \pm 1.85$  (Fig. 12).

En el perro no se registró pérdida de peso y tanto el grupo intoxicado como el control presentaron un marcado ascenso ponderal de  $30.57\% \pm 3$ .

La mortalidad fue del 100% en todos los animales intoxicados, excepto en el perro que presentó un 0%. El cobayo fue la especie que murió más rápidamente con un promedio de  $45.58$  hs  $\pm 12.67$ ; el hamster  $50.60$  hs  $\pm 12.33$  y la rata fue la especie que más tardó en morir alcanzando un promedio de  $97.50$  hs  $\pm 14.35$  (Fig. 13). Se efectuó un análisis de correlación y regresión entre la pérdida de peso y la muerte de los animales, el cual resultó no significativo.

## CUADRO CLINICO

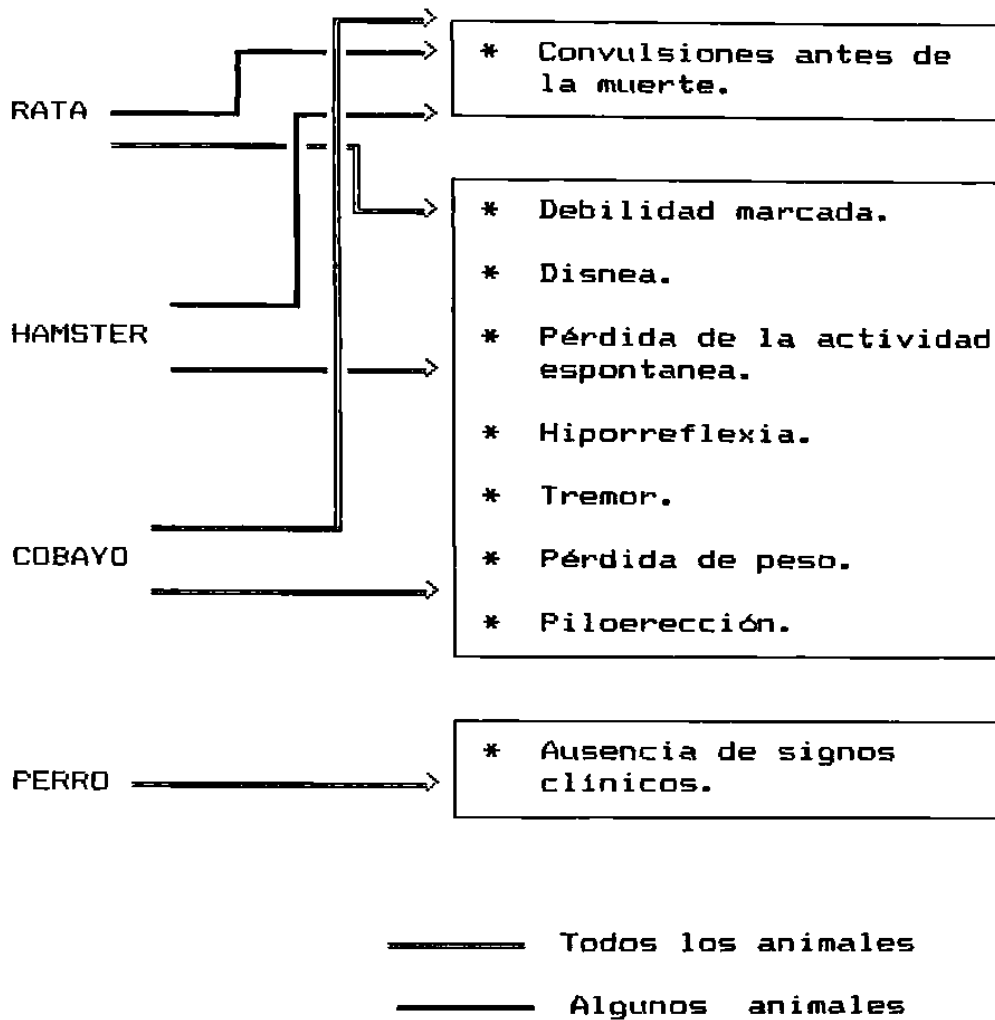


FIG. 7



FIG. 8a. RATA CONTROL.



FIG. 8b. RATA INTOXICADA CON 5g/Kg DE FRUTO MADURO DE K.HUMBOLDTIANA. SE APRECIA DEBILIDAD MARCADA, PILOERRECCION Y OCLUSION PALPEBRAL.

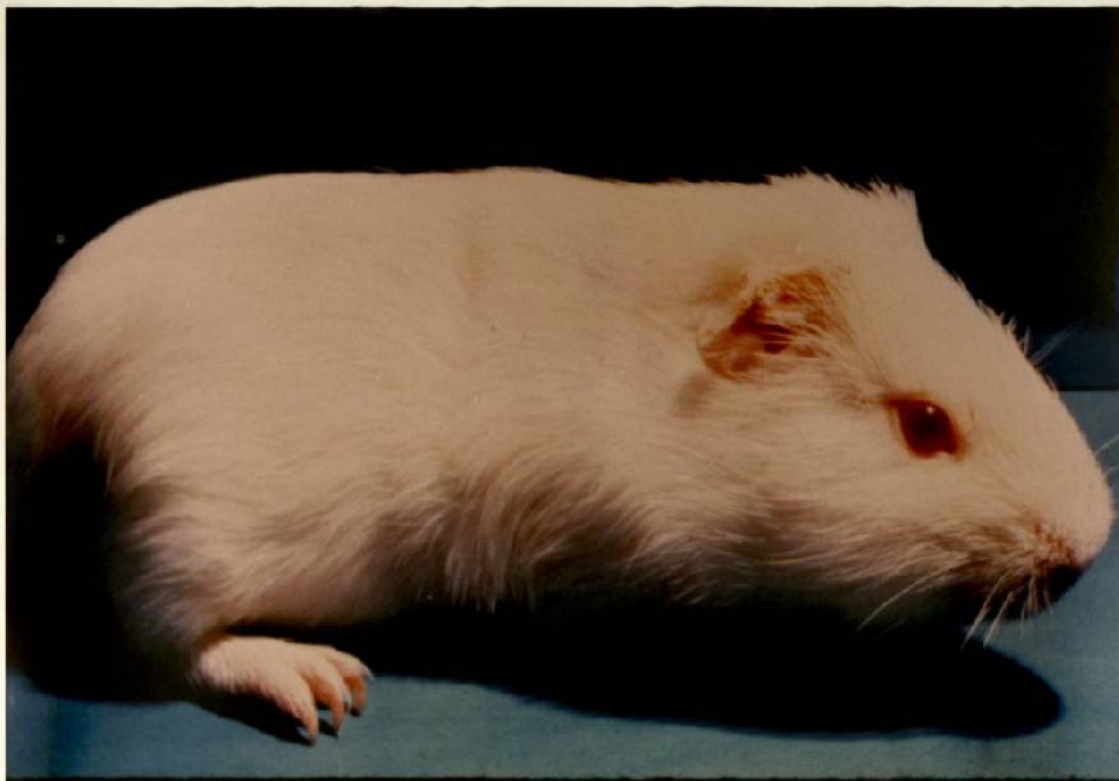


FIG. 9a. COBAYO CONTROL.



FIG. 9b. COBAYO INTOXICADO CON 5g/Kg DE FRUTO MADURO DE K.HUMBOLDTIANA. SE OBSERVA DEBILIDAD MUY MARCADA Y OCLUSION PALPEBRAL.



FIG. 10a. HAMSTER CONTROL.



FIG. 10b. HAMSTER INTOXICADO CON 5g/Kg DE FRUTO MADURO DE K.HUMBOLDTIANA. SE OBSERVA DEBILIDAD ACENTUADA Y PILDERECCION.



FIG. 12. PERDIDA DE PESO EN LAS DIFERENTES ESPECIES INDIICADAS CON *K. HUMBOLDTIANA*



FIG. 11 PERRO CONTROL (IZQ.) Y PERRO AL CUAL SE LE ADMINISTRO 5g/Kg DE FRUTO MADURO DE *K. HUMBOLDTIANA*. OBSERSE QUE NO SE APRECIA NINGUNA DIFERENCIA ENTRE AMBOS ANIMALES.

FIG. 12. PERDIDA DE PESO EN LAS DIFERENTES ESPECIES INTOXICADAS CON K. HUMBOLDTIANA

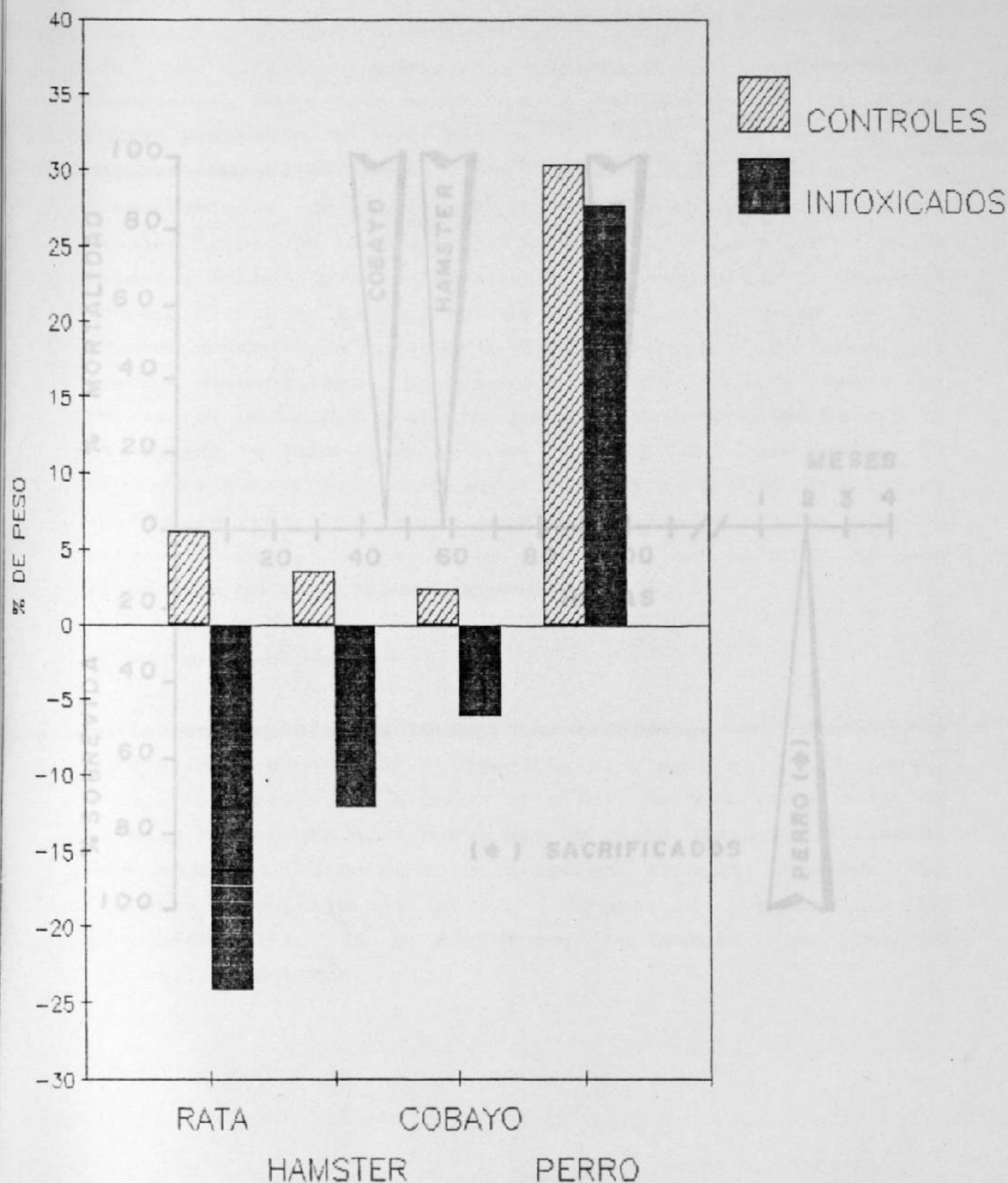
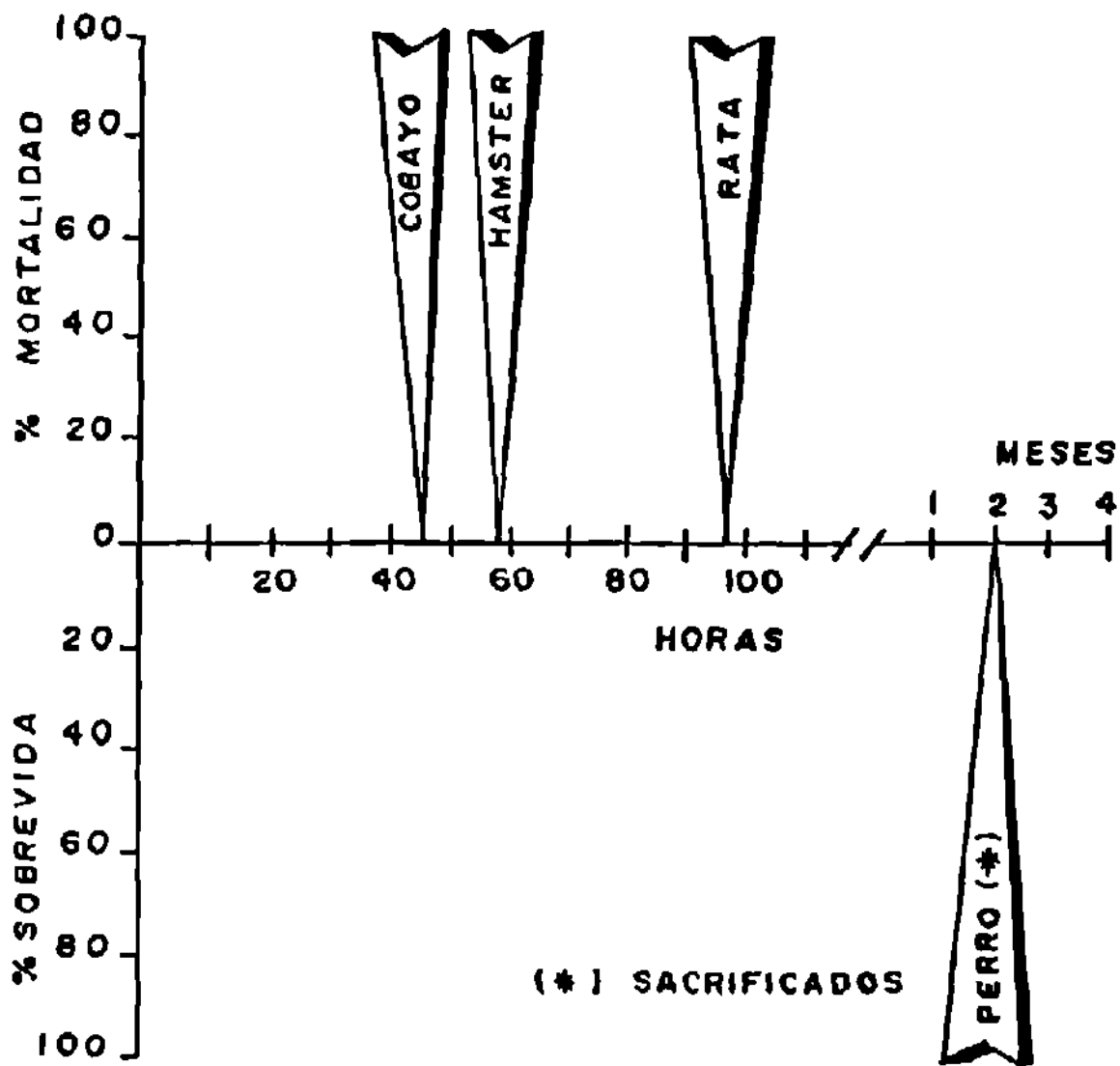


FIG. 13. PORCENTAJE DE MORTALIDAD EN HORAS DE LAS DIFERENTES ESPECIES DE ANIMALES.



## ESTUDIOS ANATOMOPATOLOGICOS

### -Estudio Macroscópico de los Organos-

Las Necropsias revelaron alteraciones macroscópicas importantes sobre todo en el hígado y el pulmón de la rata, cobayo y hamster. En el pulmón de todos los animales se observó congestión, edema, zonas de puntilleo hemorrágico de grado variable de localización subpleural y se encontró exudado seroso en cavidad torácica. El hígado de algunos animales mostró grados variables de congestión y aspecto moteado difuso de la cápsula de Glisson. El resto de los órganos presentaron un aspecto normal, excepto el riñón, el cual en algunos casos, se observó con la cápsula tensa y brillante. Un cobayo presentó una zona de infarto en bazo y en un hamster se observó un área de infarto del miocardio. El nervio ciático presentó en todos los casos aspecto normal. Las necropsias realizadas a los controles no revelaron ninguna alteración macroscópica. En el perro no se apreció ninguna alteración en los órganos ya señalados.

### -Estudio Microscópico-

En la especie rata, la lesión característica en pulmón fue congestión venocapilar intersticial severa y extensa. (Fig.14). Además, en algunos de ellos, se observaron zonas de edema y hemorragia masiva y áreas de atelectasia y enfisema. En hígado, la lesión característica en algunos animales fue necrosis centrilobulillar y congestión venocapilar y sinusoidal (Fig.15) y en otros, solamente se observó congestión moderada.

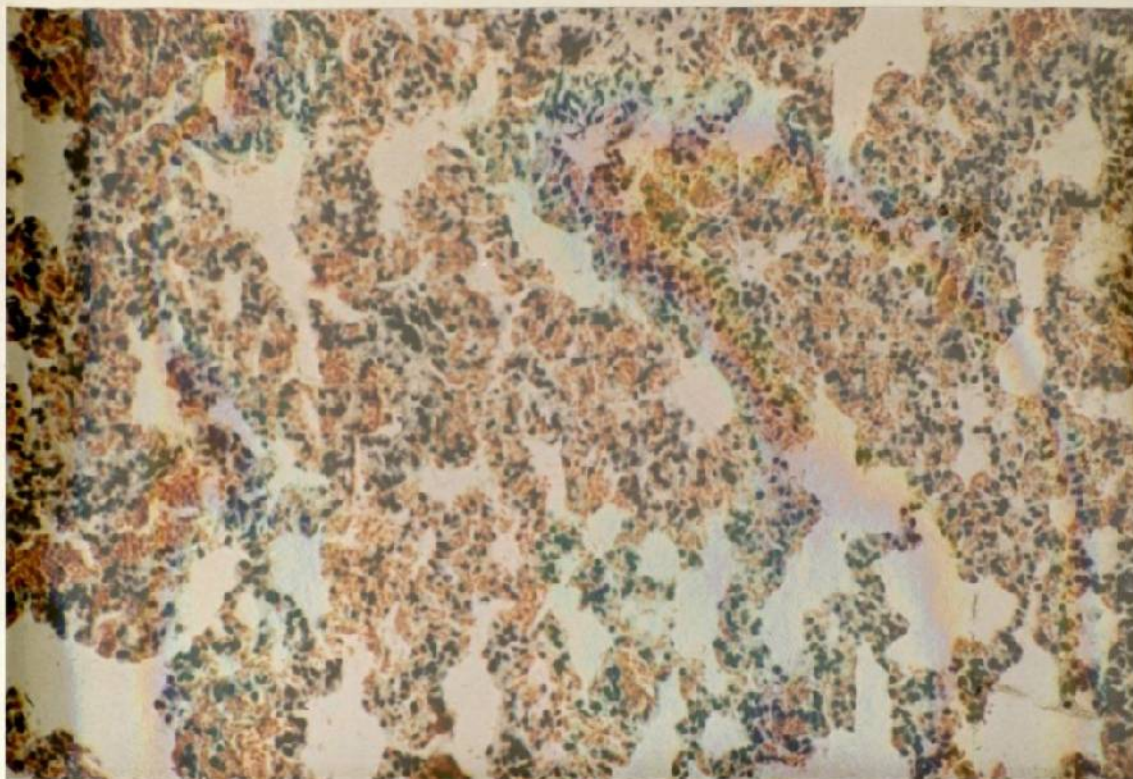


FIG. 14. RATA. SECCION DE PULMON QUE MUESTRA UNA CONGESTION VENOCAPILAR INTERSTICIAL SEVERA. (40X)

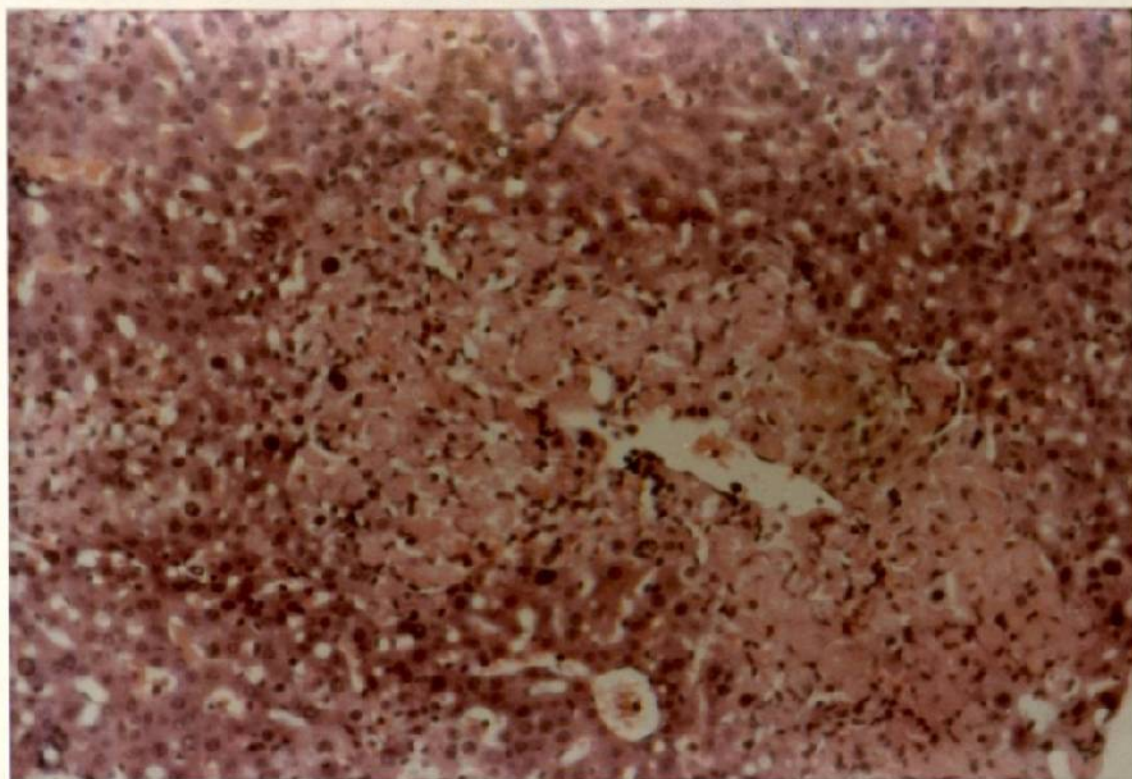


FIG. 15. RATA. SECCION DE HIGADO DONDE SE OBSERVA NECROSIS CENTRILOBULILLAR. (40X)

En la especie cobayo, la lesión predominante en pulmón fue edema agudo caracterizado por la presencia de material amorfo y acidófilo en la luz alveolar, además se observó congestión importante (Fig.16). En el hígado la lesión más significativa fue necrosis masiva y discreto colapso del parénquima hepático en algunos animales, mientras que en otros sólo se apreciaron zonas de congestión (Fig.17).

En la especie hamster, la lesión pulmonar más importante fue edema, hemorragia masiva intersticial e intraalveolar y congestión venocapilar acentuada (Fig.18). En hígado, la lesión más frecuente fue necrosis acidófila del citoplasma de los hepatocitos y congestión sinusoidal (Fig.19); en algunos animales solamente se observó discreta congestión. En un hamster se corroboró un infarto agudo del miocardio. Además de los órganos ya señalados, en el riñón se observaron en forma inconstante, zonas de degeneración hidrópica tubular, congestión intersticial y ocasionalmente tumefacción turbia. En el bazo se observó en algunos casos discreta congestión. En los capilares y vénulas del miocardio igualmente se apreció congestión moderada.

El estudio anatomopatológico del nervio ciático no presentó alteración morfológica en ninguna de las especies estudiadas (Fig.20).

En el estudio microscópico efectuado en los órganos del perro, no se observó ninguna lesión.

Las secciones histológicas de hígado y pulmón de todos los controles se observaron completamente normales (Figs.21 y 22).

Los resultados obtenidos al aplicar la prueba exacta de Fisher demostraron que la diferencia a favor de las lesiones parenquimatosas en relación a las del sistema nervioso periférico fueron altamente significativas ( $p < .0001$ ) (Ver tablas 1, 2 y 3).

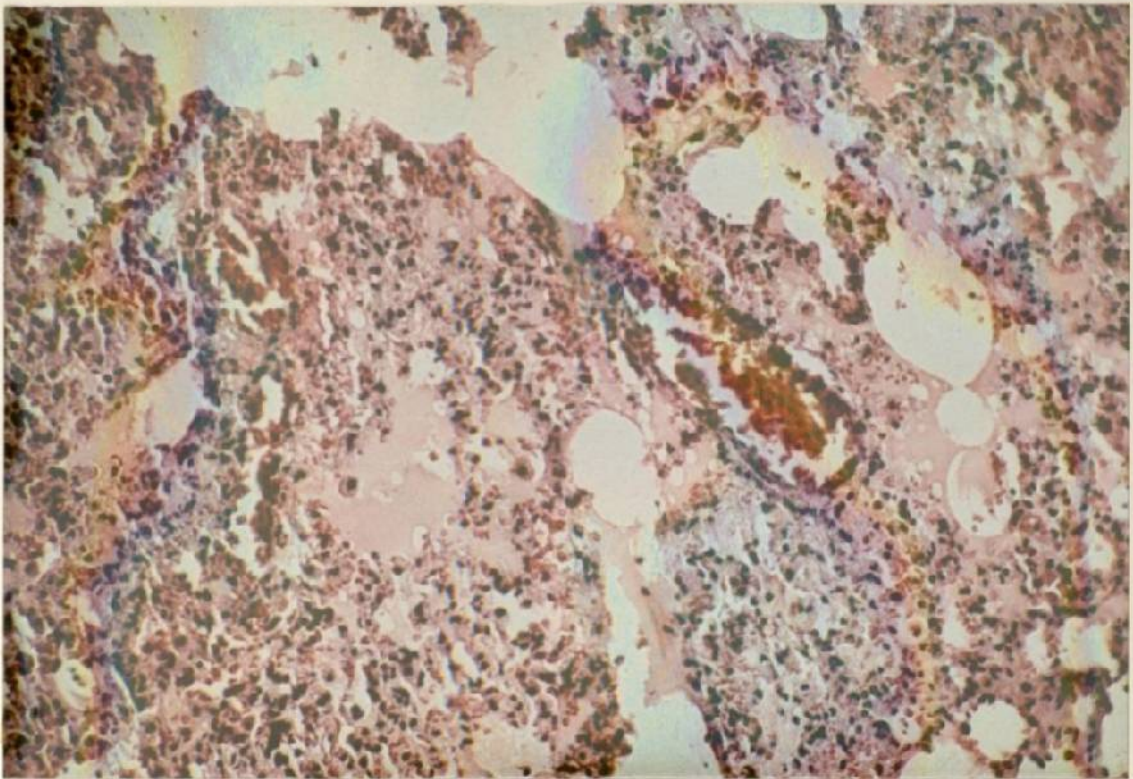


FIG. 16. COBAYO. SECCION DE PULMON QUE MUESTRA UN EDEMA AGUDO Y CONGESTION ACENTUADA. (40X)

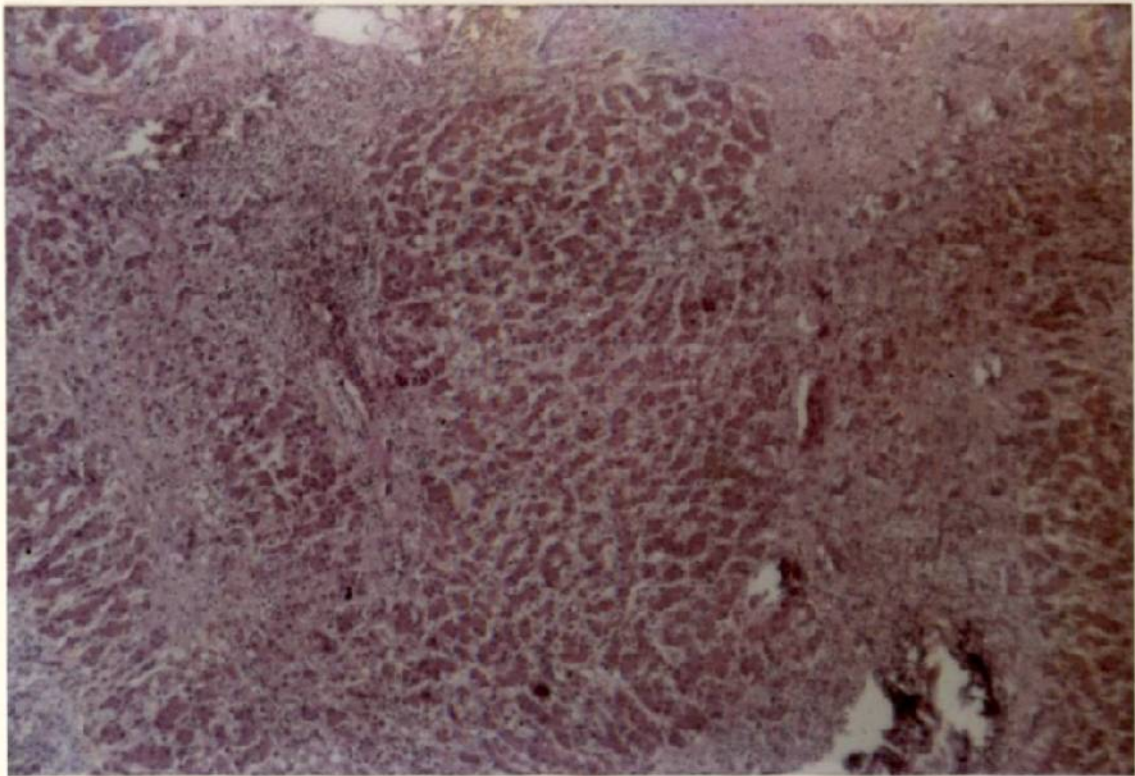


FIG. 17. COBAYO. SECCION DE HIGADO EN LA QUE SE OBSERVA UNA NECROSIS HEPATICA MASIVA. (10X)

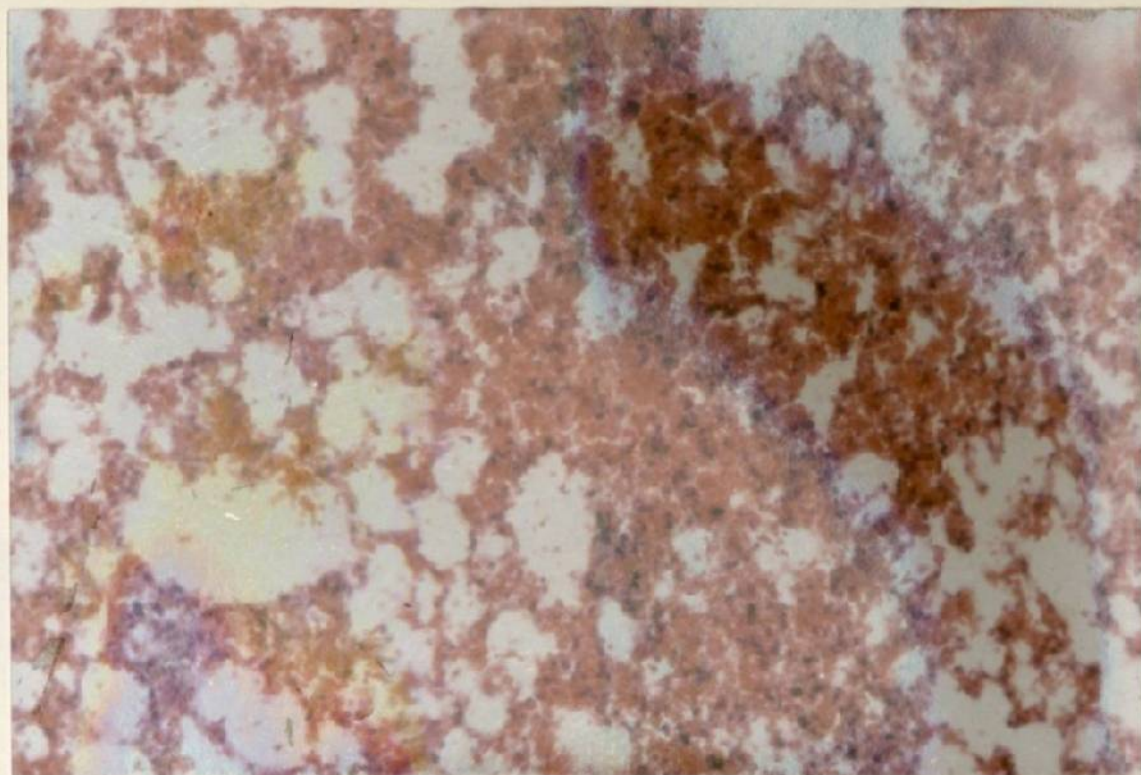


FIG. 18. HAMSTER. SECCION DE PULMON QUE MUESTRA HEMORRAGIA AGUDA MASIVA INTERSTICIAL E INTRAALVEOLAR. (40X)

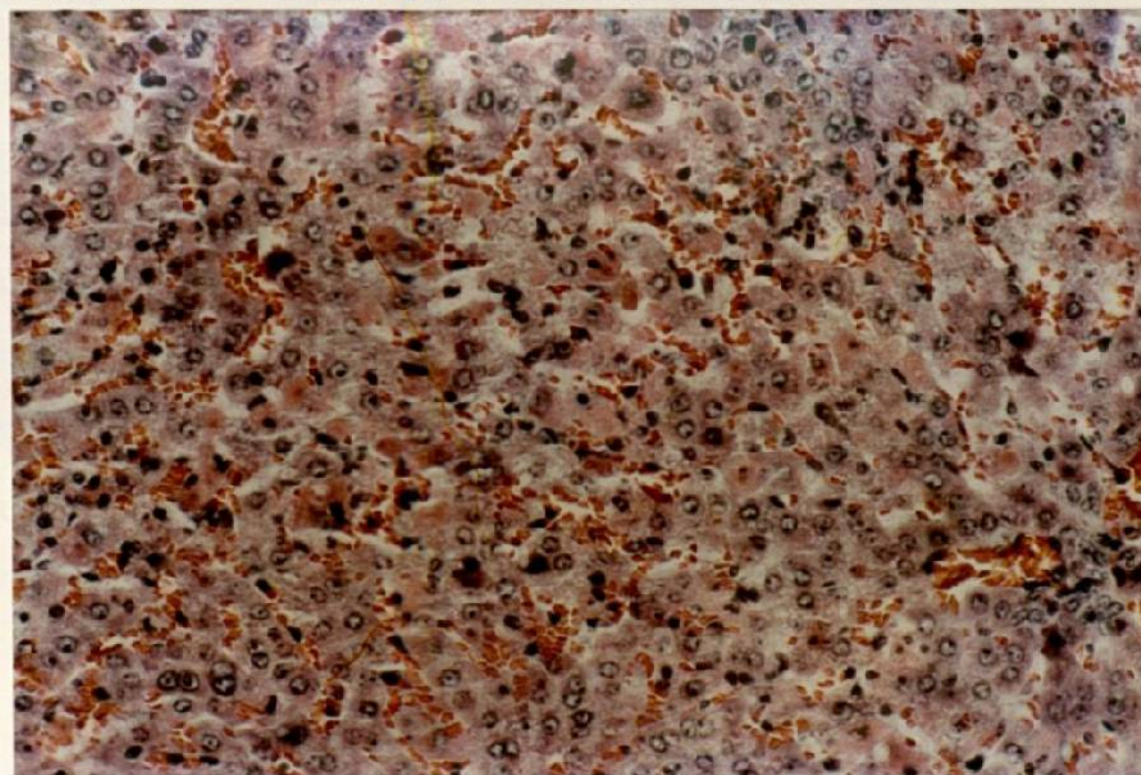


FIG. 19. HAMSTER. SECCION DE HIGADO DONDE SE OBSERVA NECROSIS INDIVIDUAL CON FORMACION DE CUERPOS ACIDOFILOS. (40X)





FIG. 20. SECCION HISTOLOGICA DE NERVIO CIATICO NORMAL.  
(40X)

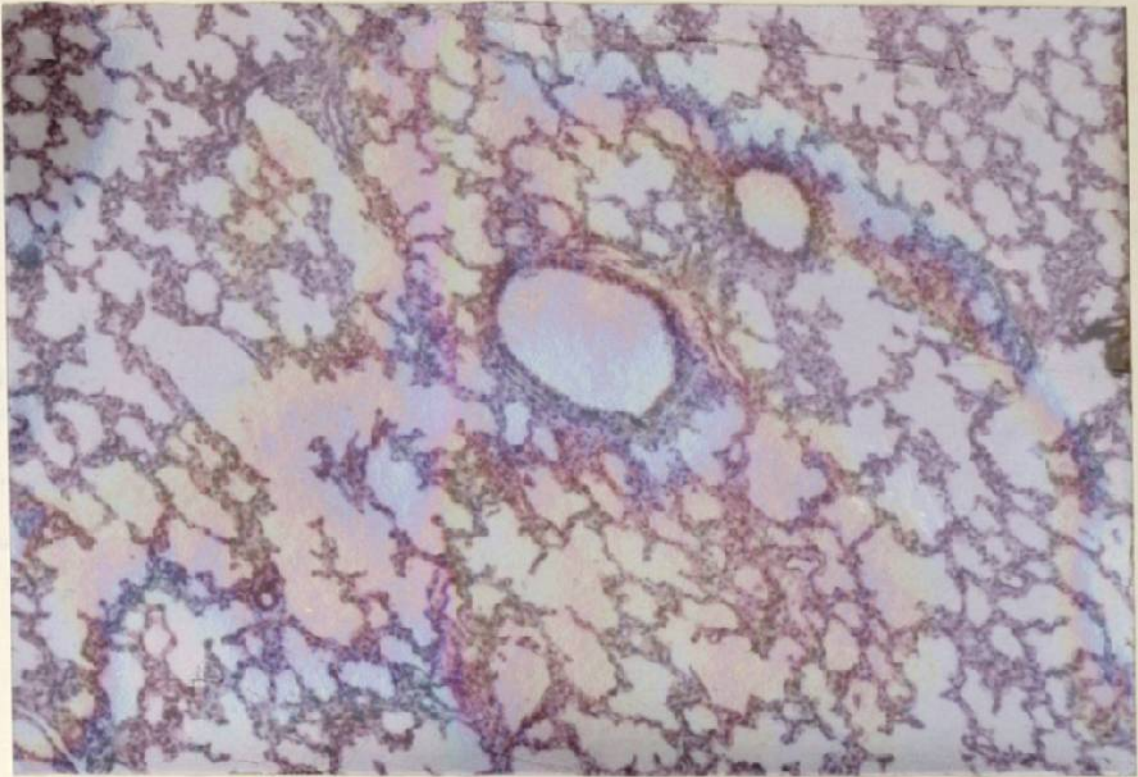


FIG. 21. SECCION NORMAL DE PULMON. (10X)

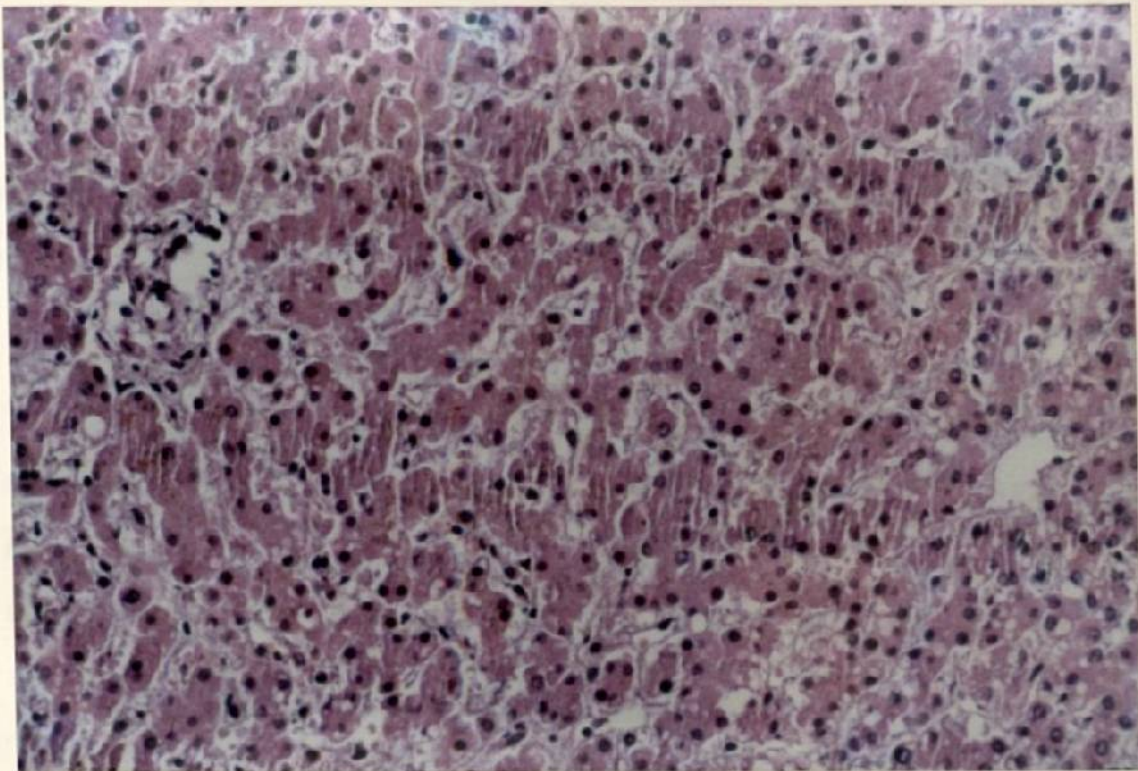


FIG. 22. SECCION NORMAL DE HIGADO. (40X)

TABLA 1.

LESIONES OBSERVADAS EN LOS DIFERENTES ORGANOS DE LA RATA

N=8

ORGANO	* DAÑO MORFOLOGICO		AUSENCIA DE DAÑO
	Irreversible	Reversible	
Pulmón	8	0	0
Hígado	4	4	0
Riñón	0	6	2
Corazón	0	0	8
Bazo	0	0	8
S.N.P.	0	0	8

Niveles de significancia estadística al comparar la proporción de Organos Dañados (Irreversible + Reversible) contra Organos no Dañados al aplicar la Prueba de Fisher.

	Hígado *	Pulmón *
Pulmón	N.C.	Riñón N.S.
Riñón	N.S.	Corazón .0001
Corazón	.0001	Bazo .0001
Bazo	.0001	S.N.P. .0001
S.N.P.	.0001	

TABLA 2.

LESIONES OBSERVADAS EN LOS DIFERENTES ORGANOS DEL COBAYO

(N=8)

ORGANO	* DANO MORFOLOGICO		AUSENCIA DE DANO
	Irreversible	Reversible	
Pulmón	8	0	0
Hígado	4	3	1
Riñón	1	2	5
Corazón	0	1	7
Bazo	1	0	7
S.N.P.	0	0	8

Niveles de significancia estadística al comparar la proporción de Organos Dañados (Irreversible + Reversible) contra Organos no Dañados al aplicar la Prueba de Fisher.

	Hígado *		Pulmón *
Pulmón	N.S.	Riñón	.01
Riñón	.05	Corazón	.0001
Corazón	.001	Bazo	.0001
Bazo	.001	S.N.P.	.00001
S.N.P.	.0001		

TABLA 3.

LESIONES OBSERVADAS EN LOS DIFERENTES ORGANOS DEL HAMSTER

N=8

ORGANO	* DAÑO MORFOLOGICO		AUSENCIA DE DAÑO
	Irreversible	Reversible	
Pulmón	8	0	0
Hígado	2	6	0
Riñón	0	3	5
Corazón	1	1	6
Bazo	0	0	8
S.N.P.	0	0	8

Niveles de significancia estadística al comparar la proporción de Organos Dañados (Irreversible + Reversible) contra Organos no Dañados al aplicar la Prueba de Fisher.

	Hígado *	Pulmón *
Pulmón	N.S.	Riñón .01
Riñón	.01	Corazón .001
Corazón	.001	Bazo .00001
Bazo	.00001	S.N.P. .00001
S.N.P.	.00001	

TABLA 4

VALORACION PORCENTUAL DEL DAÑO MORFOLOGICO

Especie	Organo	% de Daño en Organos	
		Irreversible	Reversible
Rata	Pulmón	87.5	2.5
	Hígado	70.0	30.0
	Riñón	--	7.5
Cobayo	Pulmón	67.5	2.5
	Hígado	50.0	17.5
	Riñón	--	7.0
Hamster	Pulmón	30.0	2.5
	Hígado	45.0	20.0
	Riñón	--	5.0

## DISCUSION

En este estudio se logró demostrar que cuando la ingestión del fruto maduro de la *Karwinskia humboldtiana* es abundante, se produce la muerte en todas las especies con excepción del perro en los primeros días de la intoxicación, sin presentarse el cuadro neurológico característico de esta entidad. En cambio, se observaron lesiones sobre todo en pulmón e hígado, de tal magnitud que pueden ser consideradas como las causantes de la muerte.

El cuadro clínico observado en la rata, hamster y cobayo fué similar al que presentó el ratón en nuestro estudio previamente mencionado (Bermúdez y col., 1986).

Es importante señalar que la disnea y la debilidad marcada son signos constantes de esta intoxicación. Todos los animales los presentaron en forma progresiva.

La presencia de convulsiones es otro signo que por su frecuencia de aparición, merece la pena destacar. Mientras que algunas ratas y hamsters las presentaron minutos antes de la muerte, en todos los cobayos sin excepción fueron observadas en forma intermitente y durante un período de aproximadamente dos horas; una probable explicación a este hecho podría ser la hipoxemia. Si bien el cuadro clínico fué similar en las especies estudiadas, el tiempo de aparición de la muerte y la pérdida de peso fueron variables, siendo el cobayo la especie más susceptible en cuanto a que fué la que murió más rápidamente y por lo mismo la que perdió menos peso, a diferencia de la rata que fue la más resistente, es decir, fué la especie que tardó más en morir y en la cual la pérdida de peso fué mayor; el hamster estuvo en un punto intermedio entre estas dos.

Debido a que en la especie perro no se observó ningún signo clínico de intoxicación durante toda la fase experimental, se prolongó el experimento por un período de dos meses, durante el cual permanecieron asintomáticos y con una ganancia ponderal prácticamente igual a la del grupo control. Tanto a nivel macro como microscópico no hubo evidencias de daño morfológico en órganos parenquimatosos ni en nervio ciático.

El examen histológico realizado en las otras especies, reveló lesiones severas sobre todo a nivel de pulmón e hígado, pudiéndose establecer una alta correlación entre los signos clínicos observados y el daño anatomopatológico.

El pulmón fue el órgano más dañado en todas las especies, y fueron la congestión, el edema y la hemorragia un hallazgo invariable y persistente. Esto nos pudiera sugerir un efecto tóxico directo a pulmón, el cual ya habíamos propuesto en un trabajo anterior (Bermúdez y col., 1986). Es posible también que esta sea la explicación de porqué en los casos de intoxicación aguda fatal en humanos, la muerte siempre haya sido atribuida a una complicación bronconeumónica, aún cuando el cuadro de parálisis ascendente no haya estado presente (Weller, 1980; Carrada, 1983; Puértolas, 1984).

El hígado fue el segundo órgano más dañado, y aunque la necrosis sólo pudo ser demostrada en algunos animales, ésta fue lo suficientemente significativa como para suponer que también pudiera existir un efecto tóxico directo sobre este órgano. Los casos donde solamente se observaron lesiones histológicas consideradas reversibles como la congestión, pudieran explicarse por varias razones:



La cantidad de T-514 que contenía este fruto fué de 0.29 g% a diferencia del fruto utilizado con los ratones del estudio anterior, cuyo contenido de toxina fué de 0.90g % y en donde la necrosis fué observada en todos los animales. Esto parece confirmar el hecho de que la T-514 pueda ser la responsable de la hepatotoxicidad y que la respuesta varía según la cantidad de ésta en el fruto administrado. Este hecho demuestra la necesidad de que se determine previamente la cantidad de toxinas para evitar las discrepancias que existen en los trabajos publicados en los cuales se pasa por alto la importancia del aforismo de Paracelso: "La dosis hace el veneno" que se traduce en que la dosis hace la respuesta.

Otro aspecto importante a considerar es la variación biológica que se observa en los animales de una misma especie en cuanto a sensibilidad, resistencia, absorción, distribución, metabolismo, excreción, entre otras.

Otra posible explicación para aquellos animales que presentaron lesiones histológicas reversibles, o ausencia de éstas, es que probablemente faltó tiempo para que dichas lesiones se instalaran ya que es sabido que la primera manifestación de la célula ante una agresión es su alteración funcional, que en algunos casos puede ser tan severa que causa la muerte antes de que sea posible detectar la lesión morfológica, la cual requiere de cierto tiempo para instalarse; en este estudio esta alteración funcional puede inferirse de los signos clínicos observados. Para corroborar esta observación se requieren pruebas funcionales hepáticas y pulmonares específicas.

El riñón fué el tercer órgano que mostró cambios morfológicos reversibles.

Las diferencias morfológicas encontradas en hígado y pulmón entre las diversas especies estudiadas, fueron más de tipo cuantitativo que cualitativo. Por lo anterior no puede hablarse de una susceptibilidad propia de la especie. Morfológicamente la rata resultó ser la especie en la cual se observaron daños cuantitativamente mayores que los observados en las otras especies, probablemente debido a que tardó más tiempo en morir.

Debido a la correlación que existió entre los signos clínicos y el daño anatómico, se propone un probable mecanismo fisiopatológico que pudiera explicar la causa de la muerte. (Fig. 23).

Debo hacer notar que el estudio histológico del nervio ciático en todos los especímenes no mostró alteración alguna ni macro ni microscópica, lo cual apoya la hipótesis planteada en este trabajo.

Resulta interesante que en el perro la respuesta haya sido diferente, ya que aunque es una especie mayor en la escala de los mamíferos que los roedores, también lo son la cabra, el borrego, la vaca, que sí sufren la intoxicación. Quizás a este hecho se deba que uno de los nombres comunes de la planta sea "coyotillo", pues es el coyote un animal que según el conocimiento popular es refractario a la intoxicación con *K.humboldtiana*. No existe evidencia científica sobre este hecho. El perro y el coyote pertenecen a la familia canina y de aquí surgen preguntas interesantes: ¿Tiene esta familia algún mecanismo que impide la absorción de las toxinas o son capaces de eliminarlas antes de que dosis letales sean absorbidas? o si se absorbieran, ¿Es posible que se transformen en metabolitos inactivos por algún mecanismo enzimático que desconocemos y que no existe en otras familias? La respuesta a estas interrogantes pudiera tener implicaciones importantes para encontrar el tratamiento para la intoxicación en humanos.

PROBABLE MECANISMO FISIOPATOLOGICO DE MUERTE

CORRELACION DEL DAÑO ANATOMICO Y SIGNOS CLINICOS

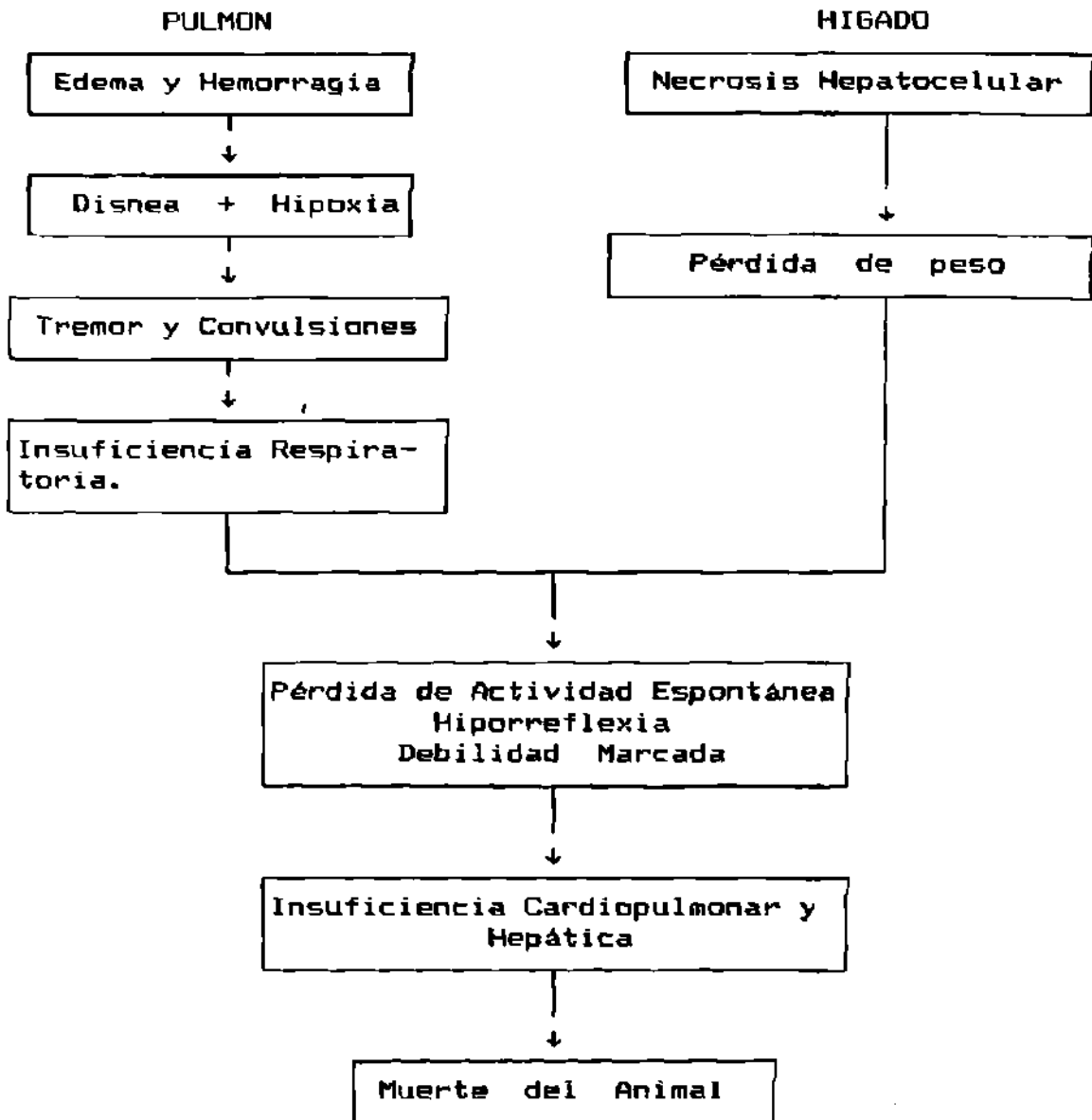


FIG. 23

En el transcurso de este estudio se compararon las lesiones parenquimatosas con las del sistema nervioso periférico y se comprobó que la muerte en la intoxicación aguda, se debió a daño pulmonar y hepático severo. Sin embargo, con intención de descartar que la hipoxia fuera producida por un efecto directo al sistema nervioso central y no por daño directo al pulmón, se agrupó fuera del programa a un lote de 8 ratas siguiendo la misma metodología de este trabajo (Bermúdez y col.,1988). Los resultados demostraron que en el tallo cerebral, cerebelo, corteza cerebral y médula no se apreciaron cambios morfológicos lo cual nos sugiere por el momento, que el efecto tóxico primario es en pulmón e hígado cuando menos en la especie rata. (Fig.24).

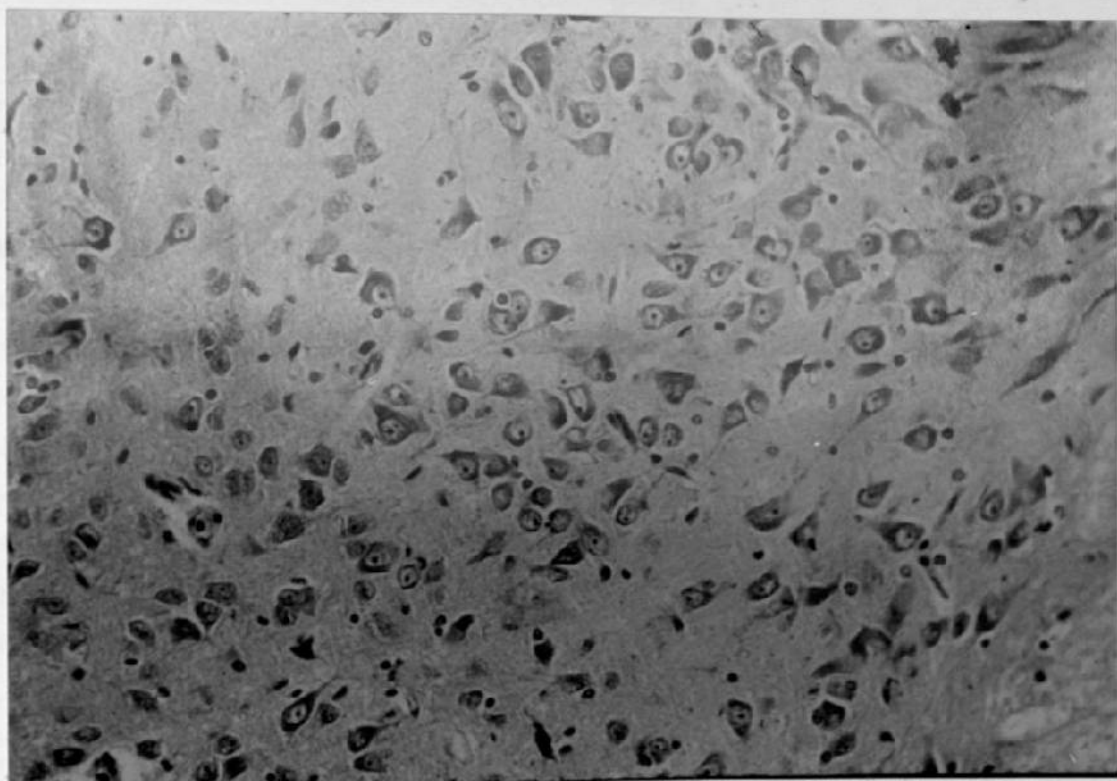


FIG. 24. RATA. SECCION HISTOLOGICA A NIVEL DE NUCLEO GRIS COMPLETAMENTE NORMAL. (40X)

## CONCLUSIONES

De los resultados obtenidos y del análisis de los datos se puede concluir lo siguiente:

- 1.- El fruto maduro de la *K.humboldtiana* a una dosis de 5g/Kg produce la muerte no solamente en la especie ratón, sino también en la rata, hamster y cobayo.
- 2.- El perro, con la misma dosis no presentó ni clínica ni morfológicamente evidencia alguna de intoxicación.
- 3.- El cuadro clínico y los hallazgos morfológicos en pulmón e hígado explican el mecanismo probable de muerte en los animales intoxicados en este estudio.
- 4.- Se sugiere la posibilidad de un efecto tóxico directo a pulmón e hígado principalmente.
- 5.- Se demostró la ausencia total de lesión neurológica periférica versus la presencia de daño parenquimatoso importante.
- 6.- Se demostró que, a excepción del perro, la muerte en los casos de intoxicación aguda con el fruto maduro de la *K.humboldtiana*, se debe a lesiones diferentes a las tradicionalmente descritas en el sistema nervioso.

## BIBLIOGRAFIA

Bustamente-Sarabia, J.; Olvera-Rabiela, J. y Nieto Canedo, L. (1978) Intoxicación fatal por tullidora (*Karwinskia humboldtiana*) Comunicación de un caso. *Gaceta Médica de México* 114, 241.

Bermúdez, M.V.; González Spencer, D.; Guerrero, M.; Waksman, N. and Piñeyro A. (1986). Experimental Intoxication with fruit and purified toxins of Buckthorn (*Karwinskia humboldtiana*). *Toxicon* 24, 1091.

Bermúdez, M.V.; Salazar, M.E.; Martínez, F.J.; Waksman, N.; Piñeyro, A. (1988) Intoxicación Aguda con Fruto Maduro de la *K.humboldtiana* en Ratas Wistar. Efectos sobre Sistema Nervioso Central. *Memorias del VI Encuentro Regional de Investigación Biomédica. Fac. de Medicina. U.A.N.L.*

Carrada, T.; López, H.; Vázquez, Y. y Ley, A. (1983) Brote Epidémico de Poliradiculoneuritis por tullidora (*Karwinskia humboldtiana*). *Hosp. Med. Infantil. Mex.* 40, 139.

Castillo Nájera, F. (1920) Contribución al estudio de la parálisis tóxica. Un envenenamiento colectivo por tullidora En: *Memoria del V Congreso Médico Mexicano. Dirección de Talleres Gráficos, Vol.1, p.240.*

Clavijero, F.X. Historia de la Antigua o Baja California. (Traducción). México. *Imprenta del Museo Nacional de Arqueología, Historia y Geografía.* 1933.

Curran, R.C. and Harnden, D.B. (1972) The Cellular Basis of Pathology. In: *The Pathological Basis of Medicine, p.25* (W.B.Saunders Co.), Philadelphia.

Charlton, K. and Pierce, K. (1970a) A Neuropathy in Goats caused by Experimental Coyotillo (*Karwinskia humboldtiana*) Poisoning. *Path. Vet.* 7, 385.

Charlton, K. and Pierce, K. (1970b) A Neuropathy in Goats caused by Experimental Coyotillo (*Karwinskia humboldtiana*) Poisoning. *Path. Vet.* 7, 408.

Charlton, K. and Pierce, K. (1970c) A Neuropathy in Goats caused by Experimental Coyotillo (*Karwinskia humboldtiana*) Poisoning. *Path. Vet.* 7, 420.

Del Pozo, E. (1965) Los Efectos Paralizantes De La "Tullidora". Estudios Clínicos y Experimentales. *Gaceta Médica de México*, 95,179.

Dreyer, D.; Arai, I.; Bashman, C.; Anderson, W.; Smith, R. and Daves, D. (1975) Toxins causing non inflammatory, paralytic neuropathy. Isolation and Structure elucidation. *J. Am. Chem. Soc.* 97,4986.

Domínguez, X.A.; Temblador, S. y Cedillo, M.E. (1976) Estudio Químico de la Raíz de la Tullidora (*Karwinskia humboldtiana*, Zucc). *Rev. Latinoamer. Quim.* 7,46.

Dewan, M.L.; Henson, J.B.; Dollahite, J.W. and Bridges, C.H. (1964) Toxic Myodegeneration in Goats produced by feeding Mature fruits from the Coyotillo Plant (*Karwinskia humboldtiana*). *Path. Vet.* 46, 2,215.

Dollahite, J.W. and Henson, J.B. (1965) Toxic Plants as the Etiologic Agent of Myopathies in Animals. *Am. J. Vet. Res.*, 26, 112, 749.



Escobar, A. y Nieto, D. (1965) Aspectos Neuropatológicos de la Intoxicación con *Karwinskia humboldtiana*. Estudio Experimental. *Gaceta Med. México*. 95, 2, 163.

Fernández Nava, R. (1987). *Comunicación Personal*.

Guerrero, M., Piñeyro, A. and Waksman, N. (1987) Extraction and Quantification of Toxins from *Karwinskia humboldtiana* (*Tullidora*) *Toxicon* 25, 5, 565.

Kerr, J.F.R. (1971) Shrinkage Necrosis: A distinct mode of cellular death. *J.Pathol.* 105, 13.

Klöver, H. and Barrera, E. (1960) Method for myelin and nerve cells. In: *Manual of Histologic Staining Methods*, 3rd Edn (Luna, L.G., Ed.) New York: McGraw-Hill.

López, F., Ocampo, A. y Guiza, G. (1960) Dos casos de parálisis ascendente debidas a la ingestión de frutos de *Karwinskia humboldtiana*. *Hosp. Med. Infant.* 17, 889.

Martínez, M. (1944) *Tullidora*. En: *Las Plantas Medicinales de México*, 3a. Ed. (Botas, Ed.). México.

Montoya, M., Lopez, G. y Hernández, A. (1982) Intoxicación por *Karwinskia humboldtiana*. Conceptos actuales. *Rev. Med. I.M.S.S.* 6, 707.

Mitchel, J., Weller, R.O., Evans, H., Arai, I. and Daves, J.D. (1978) Buckthorn Neuropathy: Effects of Intraneural Injection of *Karwinskia humboldtiana* toxins. *Neuropath. Appl. Neurobiol.* 4, 85.

Padrón Puyou, F. (1951a) Estudio Clínico Experimental de la Parálisis por *Karwinskia humboldtiana* ("Tullidora"). *Neuropath. Appl. Neurobiol.* 9, 121.

Padrón Puyou, F. (1951b) Estudio Clínico Experimental de la Parálisis por *Karwinskia humboldtiana* ("Tullidora"). *Gaceta Med. México.* 81, 299.

Padrón, F. y Velázquez, T. (1956) Patología Experimental y Clínica de la Parálisis por *Karwinskia humboldtiana*. *Revista Mexicana de Pediatría.* 25, 225.

Puértolas, M., Nava, O., Medina, H., López, F. y Dyervides, J. (1984) Polirradiculoneuritis por *Karwinskia humboldtiana*. Informe de 6 casos. *Rev. Med. I.M.S.S. (México)* 22, 25.

Robertson, W.H. (1960) Programing Fisher's exact method comparing two percentages. *Technometrics* 2, 103.

Segovia, A. y Zermeño, F. (1972) Polirradiculoneuritis tóxica por *Karwinskia humboldtiana*. A propósito de un caso. *Boletín Med. Hosp. Infant. Mex.* 29, 1, 87.

Weller, R., Mitchell, J. and Daves, D. Jr. (1980) Buckthorn (*Karwinskia humboldtiana*) toxins. In: *Experimental and Clinical Neurotoxicology*, p. 336 (Williams and Wilkins, Eds.) Baltimore.



DONA VO

