

FRECUENCIA DE INTOXICACIÓN CON *KARWINSKIA HUMBOLDTIANA*, EN MÉXICO

MARÍA VICTORIA BERMÚDEZ-DE ROCHA, M.C., DRA. M.,⁽¹⁾

FABIOLA EUGENIA LOZANO-MELÉNDEZ, Q.C.B.,⁽²⁾ VÍCTOR ARMANDO TAMEZ-RODRÍGUEZ, Q.C.B.,⁽²⁾

GENARO DÍAZ-CUELLO, M.S.P.,⁽³⁾ ALFREDO PIÑEYRO-LÓPEZ, M.C., DR. M.⁽⁴⁾

Bermúdez-de Rocha MV, Lozano-Meléndez FE,
Tamez-Rodríguez VA, Díaz-Cuello G,
Piñeyro-López A.

Frecuencia de intoxicación con
Karwinskia humboldtiana en México.
Salud Publica Mex 1995;37:57-62.

RESUMEN

La intoxicación con la Karwinskia humboldtiana presenta un cuadro neurológico similar a la poliomielitis, al síndrome de Guillain-Barré y a otras polirradiculoneuritis con las que suele confundirse. El objetivo de este trabajo fue conocer la frecuencia de esta intoxicación, mediante el antecedente de la ingestión del fruto y la detección de toxinas en sangre por cromatografía en capa fina. Se recibieron 154 muestras de casos con parálisis flácida aguda procedentes de 18 estados de la República. Se corroboró el antecedente de ingestión en 56 de ellos y la detección fue positiva en 50 de los mismos. En 98 pacientes no hubo antecedentes de ingestión y la detección fue negativa en 95 de ellos. Se obtuvo con este método una sensibilidad de 89% y una especificidad de 96.9%.

Palabras clave: *K. humboldtiana*, polirradiculoneuritis, tullidora, México

Bermúdez-de Rocha MV, Lozano-Meléndez FE,
Tamez-Rodríguez VA, Díaz-Cuello G,
Piñeyro-López A.

Frequency of intoxication with
Karwinskia humboldtiana in Mexico.
Salud Publica Mex 1995;37:57-62.

ABSTRACT

Intoxication produced by Karwinskia humboldtiana presents a neurological picture similar to that of poliomyelitis, Guillain-Barre syndrome or other polyradiculoneuritis with which it is frequently confused. The purpose of this paper is to report the frequency of this intoxication, by means of the antecedent of ingestion of the fruit and the detection of toxins in blood using a thin layer chromatography method. One hundred fifty four samples of cases with acute flaccid paralysis from 18 states of the country were received. The antecedent of ingestion in 56 of them was corroborated and the detection was positive in 50 of these. In 98 patients there was not antecedent of ingestion and detection was negative in 95 of them. We estimated that the sensibility and specificity of detection method are 89% and 96.9% respectively.

Key words: *K. humboldtiana*, polyradiculoneuritis, tullidora, Mexico

Solicitud de sobretiros: Dra. María Victoria Bermúdez de Rocha. Universidad Autónoma de Nuevo León, Facultad de Medicina. Apartado Postal 146, colonia Del Valle, 66220 Monterrey, Nuevo León, México.

(1) Responsable del Area de Bioensayos del Departamento de Farmacología y Toxicología, Facultad de Medicina, Universidad Autónoma de Nuevo León (FM, UANL), México.

(2) Departamento de Farmacología y Toxicología, FM, UANL, México.

(3) Epidemiólogo Regional del Noreste. Secretaría de Salud, Monterrey, N.L., México.

(4) Jefe del Departamento de Farmacología y Toxicología FM, UANL.

Fecha de recibido: 25 de agosto de 1994

Fecha de aprobado: 9 de noviembre de 1994

LA *KARWINSKIA HUMBOLDTIANA*, conocida como tullidora o coyotillo, es un arbusto venenoso que pertenece a la familia de las rhamnáceas. El cuadro clínico de intoxicación con esta planta ha sido tradicionalmente descrito como una parálisis flácida, simétrica, progresiva y ascendente que, en los casos graves, puede causar parálisis bulbar y muerte.^{1,2} El principio tóxico se localiza principalmente en la semilla del fruto, de donde se han extraído diversas toxinas denominadas T-496, T-514, T-516 y T-544.³ Además, se han aislado compuestos estructuralmente similares en otras plantas del mismo género: el iso T-514 a partir de la *K. umbellata*, un diastereoisómero de la T-514 de la *K. parvifolia*⁴ y la T-510 de la *K. macrocarpa*.⁵ Asimismo, en la raíz y en las hojas de la *K. humboldtiana* se ha demostrado la presencia de algunas de estas toxinas.⁶ En la actualidad se han identificado en México 11 especies del género *Karwinskia*, de las cuales se han estudiado nueve, encontrando diferencias cualitativas y cuantitativas en su contenido de toxinas.⁷ De todas las plantas del género *Karwinskia*, la *K. humboldtiana* es la especie más abundante en México, por lo que ha sido la más estudiada tanto a nivel químico como toxicológico.⁸

Los efectos tóxicos de esta planta fueron descritos por primera vez por Clavijero en 1769.⁹ La contribución clínica más amplia hasta la fecha ha sido la de Castillo Nájera en 1917, quien describió la intoxicación de más de 106 soldados, de los que pereció un 20%. En las necropsias que realizó sólo informó daño en nervio periférico.¹⁰

Otros autores han realizado diversas investigaciones para esclarecer el daño causado por el fruto de la tullidora, y han observado desmielinización segmentaria a nivel de nervio periférico, sin encontrar daño en algún otro órgano.^{11,12} Sin embargo, otros autores han notificado daño en hígado, pulmón y riñón, principalmente.^{13,14}

Estudios experimentales han mostrado que la T-544 es la responsable de la parálisis; que la T-496 produce diarrea y la T-514 causa un daño hepatopulmonar severo.¹⁵

Debido a la falta de difusión e información de esta intoxicación, no se cuenta aún con estudios epidemiológicos a nivel nacional. Por tal motivo, es propósito de este trabajo el dar a conocer su frecuencia en varios estados de la República Mexicana.

Se incluyeron en este estudio pacientes del Programa Nacional de Erradicación de la Poliomiélitis, menores de 15 años, que fueron informados por la Secretaría de Salud (SSA) con un cuadro de paresia y/o parálisis flácida

aguda. Las variables consideradas fueron el antecedente de ingestión y la detección de las toxinas en sangre por el método de cromatografía en capa fina. Por ser sensible, con alta especificidad, rápido y de bajo costo, este método es hasta ahora una herramienta adicional para establecer el diagnóstico diferencial con otras polirradiculoneuritis.

MATERIAL Y MÉTODOS

El presente estudio abarcó el periodo de enero de 1991 a diciembre de 1993 e incluyó un total de 154 pacientes (64% masculinos y 36% femeninos), procedentes de 18 estados de la República Mexicana, cuyas edades fluctuaron entre 1 y 14 años, a excepción de un paciente de 76 años, y que dentro de su cuadro clínico presentaron paresia y/o parálisis flácida aguda de miembros inferiores de origen no determinado. Las muestras de sangre fueron enviadas por diferentes dependencias del Sector Salud.

Para la obtención y manejo de la muestra se enviaron por escrito las siguientes indicaciones: previo ayuno de ocho horas se extraen 5 ml de sangre total con anticoagulante (EDTA). Se protege la muestra de la luz y se conserva en refrigeración hasta el momento de ser enviada a este laboratorio en una hielera, a la brevedad posible.

Además, cada muestra se acompañó de la historia clínica, donde se especificaron las dosis de la vacuna Sabin que el paciente había recibido. Para evitar el sesgo por sospecha diagnóstica, la detección de las toxinas se realizó en forma ciega.

El procedimiento para la detección de las toxinas fue el siguiente:¹⁶ a 5 ml de sangre se le realizaron tres extracciones con 5 ml de acetato de etilo: los 15 ml del solvente se evaporaron en un rotavapor Büchi 461 a 30 °C. El residuo se disolvió con 1 ml de cloroformo, se transvasó a un tubo de ensayo y se llevó de nuevo a sequedad con nitrógeno gaseoso. El residuo se disolvió nuevamente con tres a cinco gotas de cloroformo. En forma simultánea se procesaron de la misma manera tres muestras de sangre testigo que fueron obtenidas de niños menores de 15 años que acuden al Centro de Crecimiento y Desarrollo del Niño Sano de la Universidad Autónoma de Nuevo León.

Los extractos obtenidos se aplicaron a placas cromatográficas para capa fina de sílica gel G 60 Merck (espesor 0.2 mm), con indicador de fluorescencia. Ade-

más de las muestras problema y de los testigos blanco, se aplicó en puntos distintos un extracto de *K. humboldtiana* con las toxinas T-544, T-514 y T-496, así como 10 µl de los estándares de cada una de ellas, extraídas por el método de Guerrero y colaboradores.¹⁷ En los casos en que la muestra no se evaporó completamente con nitrógeno debido a la presencia de grasa, se eluyó la placa con éter de petróleo; posteriormente se secó y se eluyó nuevamente con benceno: acetona 3:1 y 0.1 por ciento de ácido acético. Cuando la muestra no contuvo grasa, sólo se eluyó con benceno: acetona 3:1 y 0.1 por ciento de ácido acético.

Por último, se observaron las manchas del cromatograma en una lámpara de luz ultravioleta (λ 253.7 nm) y se compararon con las de los estándares para determinar la presencia de manchas con un Rf* y fluorescencia similar al de las toxinas contenidas en la planta.

Con este método se han podido detectar hasta 40 ng de la T-514 y hasta siete semanas después de la ingestión del fruto.

Para evaluar la confiabilidad del método de cromatografía en capa fina, se estimaron sus valores de sensibilidad y especificidad y se aplicó la prueba de χ^2 para comparar los porcentajes de resultados positivos y negativos entre los casos que tenían antecedentes positivos y aquéllos con negativos.¹⁹

RESULTADOS

En 56 de los casos recibidos (36.4% del total) se corroboró el antecedente de ingestión del fruto; en 50 de los mismos la detección de toxinas fue positiva (89.3%) y negativa en los restantes seis casos.

En 95 (96.9%) de los 98 pacientes sin antecedentes de ingestión, la detección cromatográfica fue negativa. En los otros tres la detección resultó positiva. Las muestras de sangre testigo mostraron resultados negativos en todos los casos.

En todos los pacientes, excepto en el de 76 años, se comprobó que el esquema de vacunación de la polio-mielitis estaba completo.

La mayor frecuencia de casos se presentó en los meses de marzo a junio. El tiempo de latencia entre la

ingestión del fruto y el inicio de la paresia y/o parálisis varió entre una y seis semanas.

Se encontró un predominio del sexo masculino (3:1) en los años 1991 y 1993. En cambio, en el año de 1992 no se encontraron diferencias entre los sexos. Las edades fluctuaron entre 1 y 14 años, con una media aritmética de 4.4.

El cuadro clínico se caracterizó por paresia y/o parálisis flácida, simétrica y ascendente, que en algunos casos se limitó a miembros inferiores y en otros más severos llegó hasta la cuadriplejía, con compromiso respiratorio que ameritó ventilación mecánica asistida. Un signo invariable y constante, observado en los pacientes, fueron las manos en garra.

La procedencia de los casos por estados y los resultados de las determinaciones de las toxinas en sangre se muestran en las figuras 1 y 2, respectivamente.

La evaluación estadística de los resultados dio una sensibilidad del método de detección de 89% y una especificidad de 96.9%. El valor predictivo positivo fue de 94% y el negativo del 94%. La prueba de χ^2 para ambos valores mostró una $p < 0.001$.

DISCUSIÓN

El motivo que llevó a realizar este trabajo surgió hace algunos años, al estudiar los efectos tóxicos de la *K.*

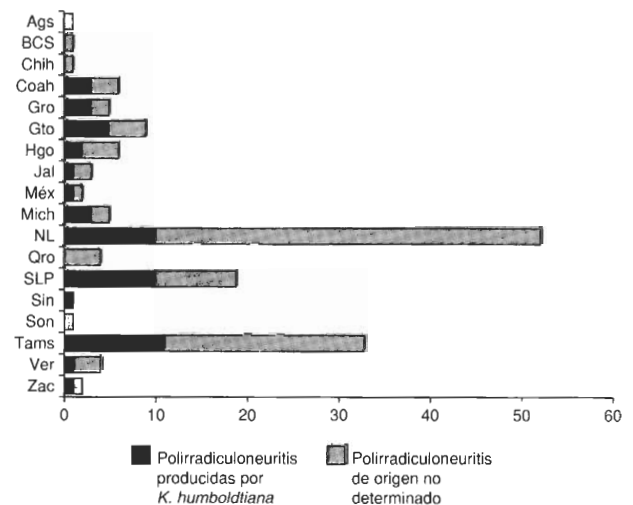


FIGURA 1. Procedencia de casos con parálisis flácida aguda. México, 1991-1993

* Rf es el frente relativo que se determina como la distancia del centro de la mancha a partir del punto de aplicación entre la distancia del frente del solvente a partir del punto de aplicación.¹⁸

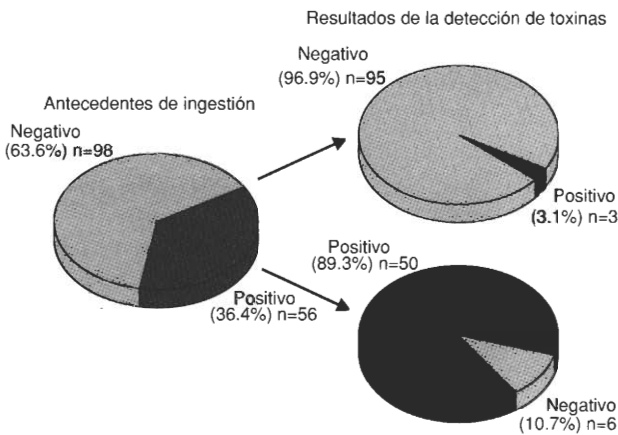


FIGURA 2. Parálisis flácida aguda, intoxicación con *Karwinskia humboldtiana*. México, 1991-1993

humboldtiana tanto a nivel experimental como clínico, y encontrar que los casos de intoxicación con el fruto de este arbusto eran diagnosticados en su mayoría como síndrome de Guillain-Barré, polirradiculoneuritis de etiología no determinada o poliomielitis.^{8,20} Sólo en algunos casos se diagnosticó como síndrome de Guillain-Barré secundario a la intoxicación por tullidora.

Además, por mucho tiempo se pensó que esa entidad nosológica era poco frecuente y limitada sólo al norte de México. Sin embargo, desde 1989 se sabe que este arbusto está distribuido en casi todo el territorio nacional.²¹

A partir de 1991 se colaboró en el Programa Nacional de Erradicación de la Poliomielitis implantado por la SSA, el cual envía muestras de sangre de los casos de parálisis flácidas agudas con sospecha de intoxicación con el fruto del género *Karwinskia*. Sin embargo, cabe aclarar que también se reciben muestras de pacientes de quienes no se tiene la sospecha o el antecedente de ingestión y, además, no se ha establecido el diagnóstico certero, a fin de descartar la intoxicación por este arbusto.

En la actualidad se tienen registrados alrededor de 20 casos de intoxicación por año, dato que parece inferior a lo que podría esperarse; se considera necesario realizar estudios epidemiológicos en el resto del país para conocer su frecuencia y contar con una herramienta adicional para la erradicación de la poliomielitis.

Se ha informado que la mayor frecuencia de esta intoxicación ocurre en los meses de noviembre a febrero.²² Sin embargo, en los últimos tres años se ha observado un mayor número de casos en los meses de marzo a junio. Asimismo se presentaron, aunque en menor proporción, intoxicaciones durante todo el año. Una explicación a este hecho, es que la planta presenta ciclos de floración y fructificación en diferentes épocas del año.²³

En estos tres años de vigilancia epidemiológica de las parálisis flácidas agudas, en las que se sospecha intoxicación con el fruto de este arbusto, se ha tenido conocimiento de cinco intoxicaciones fatales; en dos de ellas se realizó la necropsia correspondiente y se observó un daño en hígado, pulmón y riñón similar al encontrado en otras especies animales.²² Estas observaciones coinciden con las de otros autores que informan necrosis y degeneración grasa de hígado y hemorragia pulmonar.^{13,14}

Existe una alta correlación entre el grado de comunicación que se sostiene con los diferentes estados de la República y el número de casos notificados de parálisis flácida aguda con sospecha de esta intoxicación, por lo que no resulta extraño que el mayor número se haya presentado en Nuevo León con 52, seguido de Tamaulipas con 32 y San Luis Potosí con 19.

Es interesante señalar que en la mayoría de los estados de los que se reciben muestras, se confirmaron casos de intoxicación con *K. humboldtiana*.

Llama la atención que en ciertos estados del noroeste, como Durango, donde también se encuentra este arbusto, no se haya reportado ningún caso de intoxicación a la fecha. Esto hace pensar que probablemente el conocimiento de esta entidad nosológica en ese estado sea deficiente, o que la presencia de esta planta sea particularmente rara como para no representar riesgo importante de intoxicación.

De los 98 casos con antecedentes de ingestión negativa, tres resultaron con detección de toxinas positivas; esto pudiera explicarse por el desconocimiento de la existencia de esta planta o de su toxicidad, o la negación, común en los niños, de haber comido el fruto por temor al castigo de los padres. Asimismo, debe tomarse en cuenta que la sensibilidad y la especificidad de la prueba no son del 100%; por lo tanto, existe un porcentaje de pacientes que pueden dar resultados falsos positivos.

La detección negativa de las toxinas en los seis casos cuyo antecedente de ingestión fue positivo, podría tener

alguna de las siguientes causas: un tiempo prolongado entre la ingestión y la detección, concentraciones muy bajas de las toxinas circulantes no detectadas por este método, o una inadecuada obtención y manejo de la muestra. Debe considerarse también, como ya se señaló, la existencia de falsos negativos.

El tiempo ideal para la detección de las toxinas en sangre sería inmediatamente después de la ingestión del fruto, lo cual resulta muy difícil ya que los niños no suelen avisar cuando lo comen. Sin embargo, un buen momento para hacerlo es cuando aparecen los primeros signos de la intoxicación. La experiencia indica que seis a siete semanas después de la ingestión todavía es posible su detección en sangre e incluso aún en un tiempo mayor en aquellos casos en que la ingesta no fue única, sino múltiple, como sucede frecuentemente.

Mediante la cromatografía en capa fina, se han podido detectar semicuantitativamente los estándares de la T-514 en el orden de los nanogramos. En la sangre de los pacientes intoxicados con *K. humboldtiana*, aparece un compuesto con Rf similar al de la T-514, que no se observa en ninguno de los controles. Este compuesto podría ser la toxina o algún producto de degradación de la misma. Por tal motivo, en el Departamento de

Farmacología y Toxicología de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de Nuevo León se han iniciado nuevas líneas de investigación en el área de la farmacocinética, con el objeto de dilucidar el comportamiento de estas toxinas en el organismo.

Este método de detección es sencillo y de bajo costo, además de que permite establecer a la intoxicación con *K. humboldtiana* como una de las etiologías del síndrome de Guillain-Barré.

Actualmente se evalúa el costo-beneficio de otros métodos analíticos como la cromatografía de líquidos de alta presión, misma que si bien tiene mayor sensibilidad y cuyo análisis cuantitativo es más preciso, requiere de mayor instrumentación en el laboratorio y, por lo tanto, pudiera ser no aplicable a la mayor parte del país.

AGRADECIMIENTOS

Se agradece particularmente al doctor Raúl Montesano Castellanos, Subdirector de Emergencias Epidemiológicas de la Secretaría de Salud en México, D.F., y a los epidemiólogos de las Jefaturas de los Servicios Coordinados de Salud Pública de los diferentes estados por su colaboración en este estudio.

REFERENCIAS

1. Padrón-Puyou F. Estudio clínico experimental de la parálisis por *Karwinskia humboldtiana* (tullidora). Gac Med Mex 1951;81:299-311.
2. Puertolas M, Nava O, Medina H, López F, Oyervides J. Polirradiculoneuritis por *Karwinskia humboldtiana*. Rev Med IMSS 1984;22:22-27.
3. Dreyer D, Arai I, Bashuman C, Anderson W, Smith R, Daves D. Toxins causing non inflammatory paralytic neuropathy isolation and structure elucidation. J Am Chem Soc 1975;97:4986-4990.
4. Waksman N, Ramírez R. Isolation of a new dimeric anthracenone from *Karwinskia parvifolia*. Rev Latinoam Quím 1992;23:25-27.
5. Rivas V, Torres R, Waksman N. Dimeric anthracenones from *Karwinskia species*. J Med Plant Res 1990;56:562-564.
6. Domínguez XA, Temblador S, Cedillo ME. Estudio químico de la raíz de la tullidora (*Karwinskia humboldtiana* Zucc.) Rev Latinoam Quím 1976;7:46-48.
7. Fernández-Nava R. Nombres comunes, usos y distribución geográfica del género *Karwinskia* (*Rhamnaceae*) de México. Anales Inst Biol Universidad Nacional Autónoma de México. Ser Bot 1992;63:1-23.
8. Arellano E, Mendoza JF, Domínguez FJ. Intoxicación por *Karwinskia johnstonii* Fernández: estudio de 12 pacientes. Bol Med Hosp Infant Mex 1994;51:105-112.
9. Clavijero FX. Historia de la Antigua o Baja California. 3a. edición. México, D.F.: Editorial Porrúa, S.A., 1982.
10. Castillo-Nájera F. Contribución al estudio de la parálisis tóxica. Un envenenamiento colectivo con tullidora. En: Memoria del V Congreso Médico Mexicano. México, D.F.: Dirección de Talleres Gráficos, 1920:240-244.

11. Charlton K, Pierce KA. Neuropathy in goats caused by experimental coyotillo (*Karwinskia humboldtiana*) poisoning. Path Vet 1970;7:435-447.
12. Escobar A, Nieto D. Aspectos neuropatológicos de la intoxicación con *Karwinskia humboldtiana*. Estudio experimental. Gac Med Mex 1965;95: 163-177.
13. Bustamante-Sarabia J, Olvera J, Nieto L. Intoxicación fatal por tullidora (*Karwinskia humboldtiana*). Comunicación de un caso. Gac Med Mex 1978;114:241-244.
14. Weller R, Mitchell J, Daves D Jr. Buckthorn (*Karwinskia humboldtiana*) toxins. En: Spencer P, Schaumburg H, ed. Experimental and clinical neurotoxicology. Baltimore: Williams and Wilkins, 1980:336-340.
15. Bermúdez MV, Martínez FJ, Salazar ME, Waksman N, Piñeyro A. Experimental acute intoxication with ripe fruit of *Karwinskia humboldtiana* (tullidora) in rat, guinea-pig, hamster and dog. Toxicon 1992;30:1493-1496.
16. Bermúdez MV, Lozano FE, Salazar ME, Waksman N, Piñeyro A. Intoxicación familiar con *K. humboldtiana* (tullidora). Determinación de las toxinas en sangre por cromatografía en capa fina. Gac Med Mex 1995;1(131). En prensa.
17. Guerrero M, Piñeyro A, Waksman N. Extraction and quantification of toxins from *Karwinskia humboldtiana* (tullidora). Toxicon 1987;25:565-571.
18. Bolliger HR, Brenner M, Stahl E. Thin-layer chromatography. 2a. edición. Nueva York: Academic Press Inc., 1965:40-44.
19. Friedman GD. Primer of epidemiology. 3a. edición. Nueva York: McGraw-Hill, 1987:262-264.
20. Alcalá H. Diagnóstico diferencial de la poliomiелitis y otras parálisis flácidas agudas. Bol Med Hosp Infant Mex 1993;50:136-144.
21. Fernández-Nava R. Tres especies nuevas de *Karwinskia* (*Rhamnaceae*) de México. Acta Bot Mex 1988;21:11-20.
22. Bermúdez MV, González-Spencer D, Guerrero M, Waksman N, Piñeyro A. Experimental intoxication with fruit and purified toxins of Buckthorn (*Karwinskia humboldtiana*). Toxicon 1986;24:1091-1097.
23. Carrada T, López H, Vázquez Y, Ley A. Brote epidémico de polirradiculoneuritis por tullidora (*Karwinskia humboldtiana*). Bol Med Hosp Infant Mex 1983;40:139-142.