



73  
29

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO**

Facultad de Estudios Superiores  
" CUAUTITLAN "

**" ESTUDIO TOXICOLOGICO Y PATOLOGICO  
DE LA ' JARILLA '**  
( SENECIO SALIGNUS ) "

**T E S I S**

Que para obtener el título de:

**MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA**

**P R E S E N T A N :**

Elvira Mercedes Salgado Moreno

Angel Germán Martínez Sosa

ASESOR: M. V., M. C. JORGE LUIS TORTORA PEREZ

COASESOR: QFB., M. C., Ph. D. JACQUES ADES TOTAN

Cuautilán Izcalli, Edo. de Méx.

1988

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**



Universidad Nacional  
Autónoma de México



## **UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso**

### **DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## INDICE GENERAL.

T E M A,	PAGINA
Resumen	001
Introducción	003
Descripción y Distribución Geográfica del	
<u>Senecio salignus</u>	006
Química de los Alcaloides Pirrolicidínicos (APS)	009
Patogenia de los Alcaloides Pirrolicidínicos	013
Metabolismo	035
Susceptibilidad de Especie	039
Diagnóstico	041
Signos Clínicos	042
Patología	045
Hiperamonemia y Degeneración Esponjosa	051
Laboratorio Clínico	053
Tratamiento	054
Salud Pública	056
Control	059
Objetivos	061
Material y Métodos	062
Estudio Químico	064
Separación de los Alcaloides	067
Resultados	071
Discusión	080

<b>T E M A .</b>	<b>PAGINA</b>
<b>Conclusiones</b>	<b>084</b>
<b>Apéndice I</b>	<b>085</b>
<b>Apéndice II</b>	<b>086</b>
<b>Apéndice III</b>	<b>087</b>
<b>Apéndice IV</b>	<b>088</b>
<b>Apéndice V</b>	<b>089</b>
<b>Bibliografía</b>	<b>090</b>

INDICE DE FIGURAS.

FIGURA "N"	PAGINA.
1.-Núcleo de pirrolicidina	10
2.-1-hidroximetil-1:2 dihidropirrolicidina	10
3.-Alcaloides pirrolicidínicos con ésteres abiertos	10
4.-Alcaloides pirrolicidínicos con ésteres cíclicos	10
4a.-Fórmula general de los alcaloides pirro- licidínicos hepatotóxicos	11
4b.-Generación e inactivación de la capacidad alquilante de los alcaloides pirrolicidí- nicos	14
5.-Eventos moleculares y celulares en la car- cinogénesis química	16
6.-Diagrama de los dos procesos de reversión directa en células humanas	19
7.-Mecanismos de Reparación del ADN por esci- sión	21
8.-Alteraciones del ADN de Células eucarióti- cas por diferentes carcinógenos	22
9.-Teoría genética del cáncer	25
10.-Vías de Metabolismo de grupos Areno y Al- keno en sustancias genotóxicas	36

## INDICE DE FOTOGRAFIAS.

FOTOGRAFIA "No."	PAGINA
1.- Aspecto de las flores del <u>Senecio salignus</u> ("jarilla").	08
2.- Cromatograma que evidencia la separación cromatográfica de 3 diferentes alcaloides en: hojas, tallos y frutos - del <u>Senecio salignus</u> .	76
3.- Corte histopatológico de una rata tratada, en el que se observa: proliferación de conductos biliares; caricomegalia, poliploidia y degeneración albuminosa de los hepatocitos (400X-HE).	79
4.- Comparación histopatológica hepática de una rata control (derecha) y una tratada (izquierda); en la segunda se observa: megalocitosis, caricomegalia, poliploidia y degeneración albuminosa de los hepatocitos (400X-HE)	79

INDICE DE CUADROS

CUADRO "No."	PAGINA
1.- Toxicidad Comparativa del <u>Senecio jacobaea</u> en animales domésticos y de laboratorio.	44
2.- Humedad (%) de las partes del <u>Senecio salignus</u> .	71
3.- Identificación de Alcaloides.	71
4.- Identificación de N-Óxidos.	71
5.- Pesos (g) de las ratas y cobayos.	72
6.- Apareamientos y Nacimientos de ratas tratadas y no tratadas.	73
7.- Duración de los tratamientos con el extracto de <u>Senecio salignus</u> en ratas y cobayos.	74
8.- Valores de Rf de los alcaloides del <u>Senecio salignus</u> .	75
9.- Resultados de la medición micrométrica de los núcleos de hepatocitos y células epiteliales renales (micras).	78

## Resumen

La jarilla (Senecio salignus) es una planta ampliamente distribuida en el valle de México, la cual es perenne, permanece en floración durante todo el año; y puede ser consumida por el ganado en la época de estío.

Los objetivos del presente trabajo fueron determinar la presencia de Alcaloides Pirrolidínicos (APs) los cuales cita la literatura como agentes químicos hepatotóxicos y algunos cancerígenos; y determinar su efecto toxicológico patológico en ratas y cobayos.

La detección de los APs se efectuó a partir del extracto metanólico de la planta, el cual fue sometido a prueba con los reactivos generales de los alcaloides: Dragendorff, Boecharlat y Mayer; siendo positivos a estos.

Posteriormente se realizó un corrimiento cromatográfico del extracto metanólico para determinar el número de alcaloides presentes en la planta; encontrándose 3 alcaloides diferentes en tallos, hojas, flores y frutos.

Se evaluó el efecto toxicológico y patológico de dichos alcaloides para constatar que se trataban de APs en ratas y cobayos, suministrándoles una dosis constante durante diferentes periodos de tiempo; mediante el estudio histopatológico de hígado, riñón, pulmón y encéfalo; órganos principalmente afectados en la intoxicación por APs.

Se observó que las ratas son más susceptibles que los cobayos en este ensayo al Senecio salignus; siendo el hígado el órgano más afectado, presentando lesiones características de la intoxicación por APs: carinomegalia, poliploidía y hepatomegalocitosis; encontrándose un diámetro nuclear hepatocítico promedio de 11.035 micras en las ratas tratadas y de 7.46 micras en las ratas control.

una diferencia estadísticamente significativa ( $p < 0.05$ ).

Concluyendo que el Senecio salignus es una planta hepatotóxica que contiene 3 APs, siendo la rata más susceptible que el cobayo a esta. La jarilla es una planta tóxica potencial para los bovinos y equinos, los cuales son las especies más susceptibles a los APs; y para el hombre que la usa en la medicina herbolaria.

## Introducción.

En varias partes del mundo ocurren cuantiosas pérdidas de ganado como resultado del consumo de plantas que contienen Alcaloides Pirrolidínicos (APs), como las del género: *Amsinckia*, *Cacalia*, *Crotalaria*, *Cynoglossum*, *Echium*, *Erechtites*, *Heliotropium*, *Lolium*, Senecio, *Thelepogon*, *Thesium* y *Trichodesma*; en estos doce géneros se han descrito alrededor de cien APs diferentes, variando su actividad tóxica y su concentración en los diferentes órganos de la planta (27, 29, 40, 51, 53, 75, 99, 120, 131, 135, 146, 156).

Muchas plantas del género *Senecio*, de las cuáles hay aproximadamente 1250 especies en todo el mundo, son potencialmente tóxicas por tener APs; encontrándose ampliamente distribuidas en el mundo: Inglaterra, Australia, Sudafrica, Su america y Norteamérica. En la costa y noroeste de E.U. se ha observado la intoxicación por *Senecio* desde hace 15-20 años; en el este de E.U. y en Canadá hay registros de envenenamiento por *Senecio* desde 1860 (18, 24, 27, 44, 49, 114, 131, 134, 149).

En México se cuentan aproximadamente de 150 a 200 especies del género *Senecio*, encontrándose 35 en el valle de México.

Las diferentes especies del género *Senecio* han logrado adaptarse a los más diferentes terrenos, desde los patios y jardines, hasta la invasión de los cultivos de plantas útiles. Tienen la particularidad de ser perenes y de estar en floración todo el año, características que contribuyen a ampliar el ámbito de su toxicidad; a lo que debe agregarse que los APs no son destruidos por la h e n i f i c a c i o n o el ensilaje (3, 24, 29, 48, 52, 116, 123).

Los APs son potentes agentes h e p a t o t ó x i c o s caracterizados por producir megalocitosis y poliploidia; causando encefalopatías hepáticas; lesiones en el -

pulmón y riñón; y son colinérgicos en el hombre y muchos animales. Dentro de las especies más frecuentemente afectadas están los bovinos, pollos, ratas, ratones, hamsters, equinos; y en segundo término: los gatos, codornices, palomas, cerdos y animales salvajes; aunque los conejos y los ovinos son considerados resistentes. Rosiles describe un caso de muerte con megalocitosis hepática en ovinos atribuible a intoxicación por APs; los APs también son carcinogénicos en ratas y tienen actividad mutagénica en *Drosophila* (3,7,8,18,20,22,23,27,29,30,39,44,50,56,58,61,63,77,93,105,109,114,121,136,146).

Los APs pueden entrar a la alimentación humana por medio de la leche, la miel, carne, por contaminación de granos y semillas; o por la ingestión de infusiones de plantas que contienen APs como terapéutica popular (40,42,52,69,75,76,94,99,134).

En México y otros países, el padecimiento en humanos existe también como consecuencia del uso de los géneros de plantas antes mencionados en la medicina popular, dentro de los que se incluyen siete especies de *Senecio*, que se administran con frecuencia en infusiones para toda clase de padecimientos o como abortivos; ejemplo de ello es el *Senecio longilobus*, conocido comúnmente como "gordo lobo", hierba que se vende en forma comercial para aliviar problemas de tipo articular y respiratorio, habiendo causado muertes en E.U.; en México se han registrado muertes por recibir tratamientos inespecíficos relacionados con el *Senecio*<sup>24</sup>. La *Crotalaria spectabilis* causa la enfermedad venooclusiva del hígado en el hombre y en *Macaca speciosa* (27,29,40,65,90,99,109,112,131,134).

En el presente trabajo se estudió la toxicidad y patología del *Senecio salignus* ("jarilla", "chical", "flor de Dolores", "jaral") en animales de laboratorio; esta especie se ha escogido por su amplia distribución en el valle de Mé

xico y en otras partes del país, en particular en el municipio de Cuautitlán Izcalli y en el de Cuautitlán de Romero Rubio, Estado de México; se ha observado que es consumido por el ganado que se encuentra en pastoreo extensivo, con la posibilidad de ser consumido por animales estabulados en forrajes (frescos o heno) contaminados por la planta (3,109,123,135).

\* Comunicación personal del Biólogo José García de la Universidad Autónoma de Chapingo, México.

\*\*Comunicación personal de próxima publicación en la Revista Patología, Dra. Cecilia Ridaura Sanz, Jefa del Depto. de Patología IMAN.

Descripción y Distribución Geográfica del Senecio salignus.

Las plantas del género Senecio pertenecen a la familia de las compuestas y subfamilia de las tubulifloras (116).

Son plantas anuales o perennes, sufruticosas, arbustos de hojas alternas o pariticas; las cabezuelas son heterógamas u homógamas que se encuentran en la periferia con ligulas amarillas o blancas y las del disco son tubulosas y hermafroditas; el involucre cilíndrico está acompañado por una hilera de brácteas iguales libres entre sí, acompañadas o no por brácteas más cortas a manera de un cálculo, el receptáculo es plano o algo convexo y a veces pestañoso, las anteras son obtusas en la base y rara vez sagitadas; las ramas del estilo tienen el ápice truncado en donde llevan una corona de pelos. Los aquenios (semillas) son cilíndricos con cinco a diez costillas con el vilano de pelos simples y blancos (3,116,123).

El Senecio salignus (jarilla), es un arbusto que mide de 1 a 2.5 m de altura con la corteza parda, las hojas son sésiles elíptico lanceoladas, estrechas, enteras o aserradas agudas en ambos extremos glabras, mide de 3 a 12 cm de largo por 5 a 15 mm de ancho. La inflorescencia es cínosa-paniculada con numerosas cabezuelas radiadas de 8 a 11 mm; las brácteas se encuentran involucradas alrededor de unas 8 de color amarillo verdoso y más cortas que las flores del disco. Las flores son amarillas liguladas y los aquenios son pubescentes - (fotografía 1) (123).

Los miembros del género Senecio se encuentran ampliamente distribuidos en el mundo, de los que hay más de 1250 especies sospechosas de poseer propiedades tóxicas (53).

En Gran Bretaña considerados definitivamente peligrosos son: el Senecio jacobaea (hierba lombriguera), el Senecio aquaticus (mars ragwort), el Senecio squolidus (Osford ragwort) y el Senecio vulgaris (hierba caná o zuzón). De ellos el Senecio jacobaea es sin duda el más difundido y el más importante; y probablemente como Farsyth (1954) señala, produce más pérdidas anuales en la ganadería que todas las restantes especies juntas.

En Africa del sur el Senecio burchellii, S. retrorsus, S. dicifolius v. S. isatideus; son especies que también ocasionan pérdidas económicas en los animales al igual que en Australia el S. jacobaea y S. cunninghamii (48,76,93,114).

El género Senecio también tiene amplia distribución en America con excepción de las islas del Pacífico, la Antártida y la región Amazónica.

En Uruguay este género esta representado por alrededor de 25 especies, el Senecio brasiliensis var. tripartitus (spreng), está distribuido en Sudamérica desde el río de Janeiro hasta río Grande en el Brasil, Paraguay y zona noreste de Argentina. En E.U. el S. vulgaris, S. longilobus y S. jacobaea se encuentran ampliamente distribuidos (48,76,93,114).

En el norte de México encontramos el Senecio spartioides; en Chihuahua el Senecio cordifolius, S. jacobaea y S. flacidus Lees; este último también lo encontramos en Veracruz, Coahuila e Hidalgo al igual que el S. sanguisorbae (154).

En general México cuenta aproximadamente con 150 a 200 especies del género Senecio, encontrándose 35 en el valle de México.

El Senecio salignus es el más abundante en el valle de México y en muchas partes de nuestro país; el desierto de los Leones, la cañada de Contreras, la sierra de Guadalupe, el pedregal de San Angel, el cerro de Sta. Catarina, la sierra del Ajuaco, Cuautitlán de Romero Rubio, Cuautitlán Izcalli y los estados

de Oaxaca, Veracruz, Michoacán y Guanajuato; son algunos ejemplos de los lugares en donde podemos encontrar esta planta (123).

\* Comunicación personal del Biólogo José García de la Universidad Autónoma de Chapingo.



Fotografía No 1.- Aspecto de las flores del Senecio salignus ("jerilla").

### Química de los Alcaloides Pirrolidínicos (APs).

Los APs están formados por dos anillos pentagonales que tienen un átomo de nitrógeno en común en la posición 4 (figura 1). Todos los APs se derivan del compuesto 1-hidroximetil,1:2 dihidropirrolidina (figura 2) (33,34,94).

Los APs tóxicos son ésteres cuyos enlaces se localizan en la posición 1 y 7, en algunos APs los ésteres son abiertos como en la heliotrina (figura 3) y en otros los ésteres son cíclicos como en la retrorsina (figura 4). Sólo los ésteres de cadenas ramificadas ácidas son tóxicos, el núcleo de pirrolidina-insaturado no es tóxico y cuando el átomo de nitrógeno del núcleo se oxida da origen a los N-óxidos de los APs (37,94,127).

Hay 3 condiciones para la toxicidad de los APs:

- 1) Que el núcleo tenga un doble enlace en la posición 1:2.
- 2) Que el núcleo tenga grupos hidroxilo esterificados.
- 3) Que al menos una de las cadenas laterales éster tenga un carbono ramificado (32,94).

Los APs más hepatotóxicos son diésteres cíclicos semejantes a la retrorsina y la senecionina, un requisito para la toxicidad es la función éster alílico; se ha sugerido que la reacción tóxica es una alquilación ejercida por el grupo éster alílico que realiza la fisión del oxígeno alquilo (figura 4a) (90).

Químicamente los APs son muy estables, la oxidación del nitrógeno es la reacción más común, son ligeramente hidrosolubles a pH neutro y los ésteres abiertos son más hidrosolubles que los cerrados (94).

Los pirroles son obtenidos por deshidratación de los N-óxidos de los APs, son químicamente muy reactivos y tienen actividad alquilante superior a la de los N-óxidos y los APs de los cuales derivan; dan color magenta con el reacti-

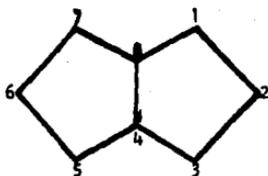


Figura 1.- Núcleo de Pirrolizidina

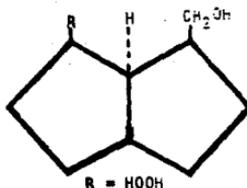
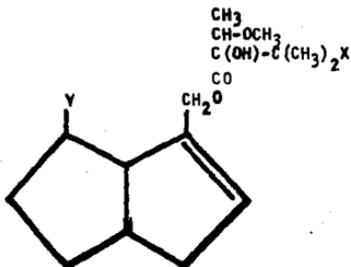


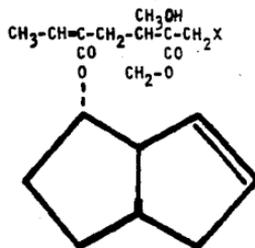
Figura 2.- 1-hidroximetil-1:2 dihidropirrolizidina

Figura 3.- Alcaloides Pirrolizidínicos con ésteres abiertos.



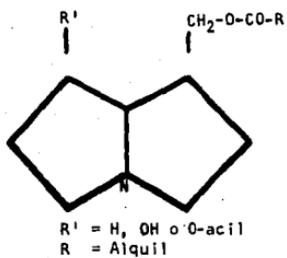
X = H; Y = OH; Heliotrina  
X = OH; Y = CH<sub>2</sub>CH: C(CH<sub>3</sub>)COO;  
Lasiocarβina

Figura 4.- Alcaloides Pirrolizidínicos con ésteres cíclicos.



X = H; Platifilina (cis)  
X = H; Senecionina (cis)  
X = OH; Retrorsina (cis)  
X = H; integerrilina (trans)  
X = H; Saneciofilina (cis: doble enlace en C2':C1'  
X = OH; Ridelina; doble enlace en C3':C4'

Figura 4a.- Fórmula General de los Alcaloides Pirrolidínicos Hepatotóxicos (McLean, 1970).



vo de Ehrlich. Se sugiere que los pirroles son los productos metabólicos responsables de la toxicidad de los APs, la cual depende de la proporción de APs que son convertidos a pirroles y la reactividad química de los metabolitos pirrólicos (90,94).

Los factores que afectan la conversión de los APs a pirroles son:

- 1) Los aminoalcoholes (necinas) no metabolizables a pirroles (64).
- 2) La hidrólisis del éster del AP impide la conversión a pirrol; se forma 15 veces más pirrol a partir de diésteres que de monoésteres (debido al aumento de lipofiliidad de los diésteres).
- 3) La mitad ácida afecta la formación de pirroles.
- 4) Los N-etilcarbamatos producen más pirroles que los tigtatos (debido a que los carbamatos resisten la hidrólisis enzimática).
- 5) Los APs con diésteres cíclicos, son mejor convertidos a pirroles que los APs con diésteres abiertos.
- 6) Los APs con ésteres alifáticos son pobremente convertidos a pirroles y en general la estructura de los aminoalcoholes, ya que es esencial la presencia del doble enlace y de mono y/o diésteres.

Los pirroles son agentes alquilantes electrofílicos que reaccionan con los tioles, por lo que el glutatión (GSH) puede proteger al hígado de la toxicidad de los APs.

La toxicidad de los pirroles depende de su actividad química, actúan electrofílicamente por medio de sus grupos ésteres activados y nucleofílicamente como pirroles.

Pueden ser desactivados por hidrólisis y polimerización, la polimerización es una autodesactivación de los pirroles; por lo tanto los más estables son los más tóxicos (90).

### Patogenia de los Alcaloides Pirrolicidínicos.

Los APs son considerados como fuertes agentes químicos mutagénicos, carcinogénicos, genotóxicos y antimitóticos (30,33,60,91,153).

Los efectos de los APs citados anteriormente, son consecuencia de su actividad alquilante sobre el ácido desoxirribonucleico (32,33,91,94).

Los agentes alquilantes se caracterizan por intervenir en reacciones químicas electrofílicas con la formación de intermediarios del ión carbonilo o de complejos de transición en las moléculas blanco, formando enlaces covalentes - alquilación- con varias sustancias nucleofílicas como: grupos fosfato, amino, sulfhidrilo, carboxilo e imidazol (14,51,150). En general los agentes alquilantes atacan muchos centros nucleofílicos, en no menos de 15 sitios diferentes - de las bases nitrogenadas: N-7, O-6, N-3 y C-8 de la guanina; N-1, N-3, N-7 y 6-NH<sub>2</sub> de la adenina; N-3, 4-NH<sub>2</sub> y C-2 de la citosina; N-3 y O-4 de la timina - (108,122,124).

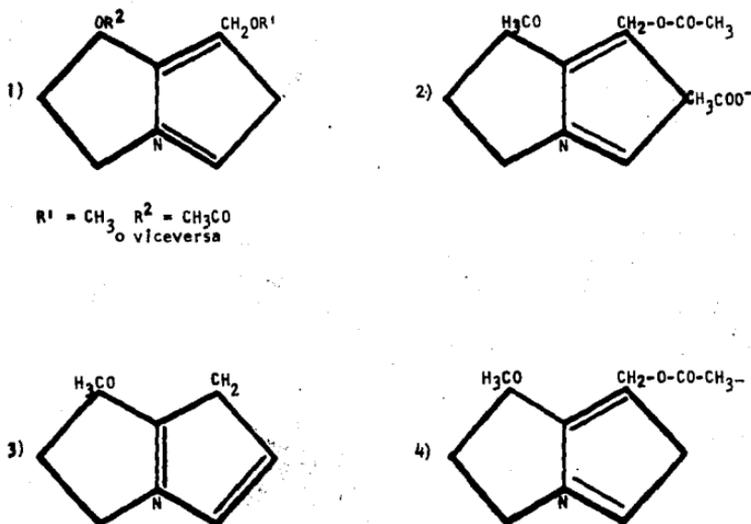
La formación de los APs carcinogénicos derivados del pirrol, con fuerte actividad alquilante, son consecuencia de la actividad metabólica de la enzima monooxigenasa del retículo endoplásmico del hepatocito (figura 4b) (95).

A continuación se dará una descripción general de los factores involucrados en el complejo y aún no bien estudiado proceso carcinogénico para situar la patogenia de los APs en el contexto de dicho proceso.

En general los agentes carcinógenos se clasifican en: químicos, físicos y biológicos (14).

Los carcinógenos químicos en general son convertidos *in vivo* en metabolitos electrofílicos reactivos, los cuales se combinan con grupos nucleofílicos importantes, como los ácidos nucleicos y las proteínas, formando productos co-

Figura 4b.- Generación e Inactivación de la Capacidad Alquilante de los Alcaloides Pirrolidínicos (McLean 1970).



La capacidad alquilante de la estructura:

- 1) Depende de la transferencia de electrones desde el N como en,
- 2) Ionizándose el éster produciéndose la estructura
- 3) Que es un agente alquilante; las enzimas hidroxilantes hepáticas pueden adicionar un OH en la posición 2
- 4) Y evitar la transferencia de electrones y la producción del agente alquilante.

valentes estables y donando grupos alquilo, etilo o metilo (95,108,124).

En general la mutación del ácido desoxirribonucleico (ADN) o posiblemente otros cambios en la información genética de la célula, ocasionados por las reacciones con grupos electrofilicos, son el evento primario en la carcinogénesis química (figura 5). El proceso carcinogénico es más complejo que el mutagénico, los sitios específicos de reacción de los agentes químicos sobre el ADN son muy importantes para determinar su efecto mutagénico (95).

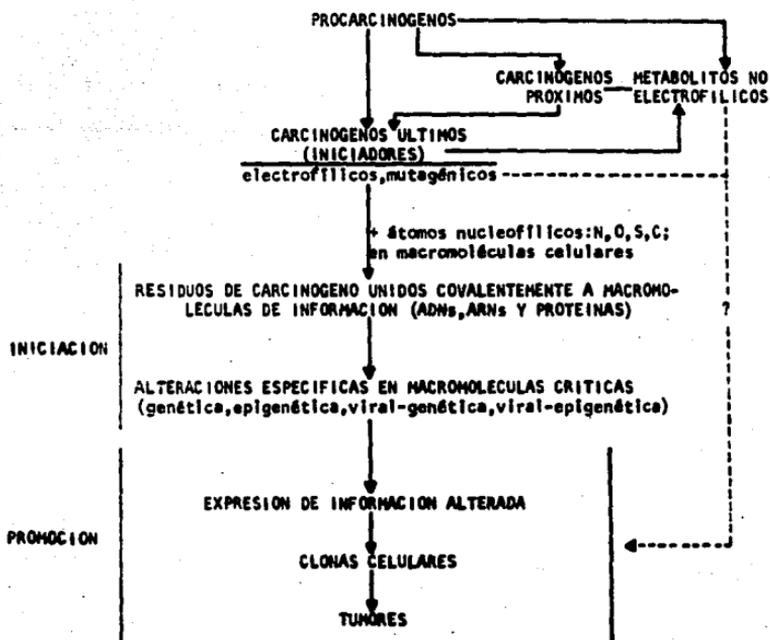
Además de los agentes químicos también los agentes físicos pueden lesionar el ADN, las radiaciones no ionizantes como los rayos ultravioleta (uv) producen dímeros de pirimidina, principalmente de timina, al formar un anillo de ciclobutano entre los carbonos 5 y 6 de dos timinas adyacentes (4,14,70,124, -154).

Las radiaciones ionizantes, rayos X y rayos gama, forman iones que reaccionan con las bases produciendo hidroxiperoxidación en el doble enlace 5-6 de las pirimidinas y rompimientos simples y dobles del ADN con la formación de sitiosapurínicos y apirimídínicos (4,14,154).

En general los carcinógenos físicos y químicos producen muchos tipos de modificaciones estructurales en el material genético: substituyendo, degradando y liberando bases; fragmentando residuos de azúcares, rompiendo una sola cadena (escisiones en el esqueleto fosfodiéster de cadenas individuales), rompimiento de la doble cadena; enlaces cruzados del ADN, intracatenarios -en la misma cadena, e intercatenarios- entre las dos cadenas; y enlaces cruzados ADN-proteína - (124).

La vida de todo ser vivo y su continuidad de generación en generación depende de la estabilidad de la información genética codificada en el ADN, mante-

Figura 5.-Eventos Moleculares y Celulares en la Carcinogénesis Química (Miller,1981).



nida por enzimas que constantemente reparan las lesiones del material genético; tanto la vulnerabilidad al daño como la susceptibilidad a la reparación - están implícitas en la arquitectura del ADN (70,85).

Los procesos del metabolismo del ADN son: replicación, recombinación, - transcripción y reparación (14). La complementariedad es la base de la replicación y la recombinación del ADN; así como de su reparación y su expresión - en la forma de proteína mediante los procesos de transcripción y de traducción.

La incorporación al ADN de una base alterada o incorrecta, o alguna le - sión que distorsione y cause algún cambio tridimensional de la doble hélice, - impide el apareamiento exacto de las bases; bloqueando la replicación, recom - binación y síntesis de proteínas; si el daño no es reparado, o la reparación - es defectuosa puede provocar la muerte de la célula o inducir un proceso neo - plásico (70). Las distorsiones producidas por las radiaciones ionizantes y - los agentes alquilantes se reparan por acción de la enzima N-glicosilasa; la - cual rompe el enlace glicosílico entre la base y la desoxirribosa, produciendo los sitios apurínicos o apirimídínicos; las endonucleasas apurínicas/apiri - midínicas, AP IV y AP VI rompen el enlace fosfodiéster; actuando posteriormen - te un exonucleasa, una polimerasa que reponen los nucleótidos lesionados y por último una ligasa que une las dos cadenas de ADN (14,154).

La reparación por escisión-resíntesis se realiza cuando hay dímeros de - pirimidina, por lesiones producidas por sustancias químicas (hidrocarburos - policíclicos, aminofluorenos y aflatoxinas) y es iniciada por el cambio con - formacional que sufre la doble hélice del ADN. La distorsión del ADN es reco - nocida por una endonucleasa que rompe el enlace fosfodiéster cercano al extre - mo 5' del dímero de pirimidina, dicha enzima es dependiente del ATP (124).

Las células humanas se han tomado como modelo para estudiar los mecanismos de reparación del ADN en eucariotes; poseen una batería de procesos enzimáticos coordinados que toleran las lesiones del ADN (92).

Tres mecanismos básicos están razonablemente bien definidos: la reversión directa, la reparación por escisión y la reparación postreplicación; los 2 primeros si son procesos de reparación, el tercero es un método para tolerar el daño al ADN (108).

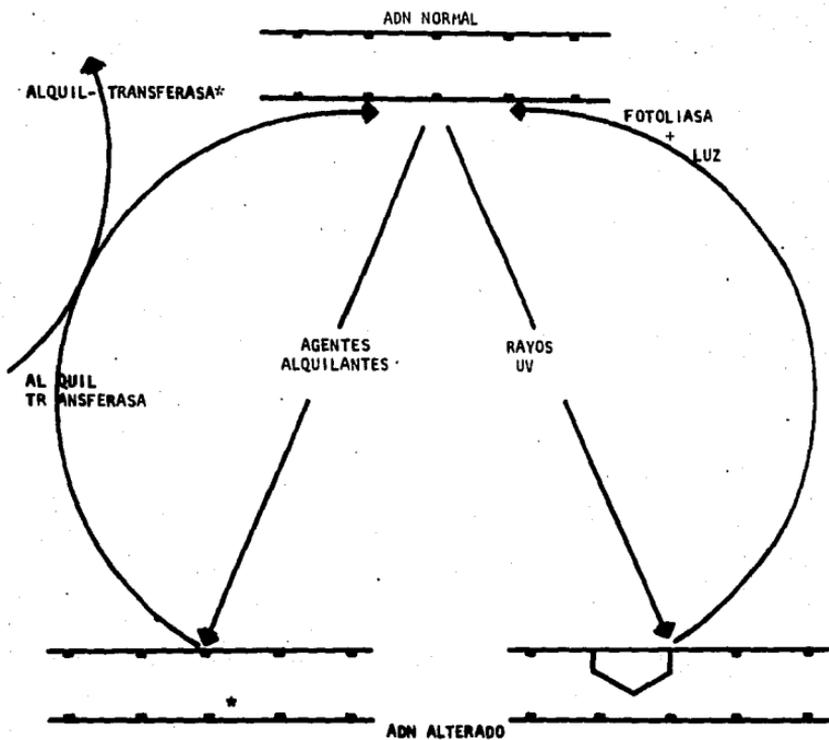
En la reversión directa, el sitio alterado es restaurado a la normalidad in situ sin ninguna modificación adicional del ADN; dos tipos de reversión directa son conocidos, la reparación fotoenzimática que es catalizada por la enzima fotoliasa y el proceso de transferencia de alquillos; en el cual se renuevan los grupos metil o etil del O-6 alquilguanina mediante una proteína aceptora, la ADN alquiltransferasa (figura 6) (108,122).

La reparación por escisión puede ser realizada sobre bases o nucleótidos alterados; la primera involucra la acción de las enzimas: ADN glicosilasa, AP endonucleasa, una exonucleasa, una polimerasa y una ligasa; en la escisión de un nucleótido interviene una endonucleasa, una exonucleasa, una polimerasa del ADN y por último una ADN ligasa (108).

En general la reparación por escisión de las bases se caracteriza por: manejar pequeñas lesiones, produciendo disrupción mínima durante el apareamiento; formar pequeños parches de reparación de varios nucleótidos de longitud y concluye después de una hora de iniciado el proceso de reparación (108).

La reparación por escisión del nucleótido se efectúa sobre lesiones que causan mayor distorsión de la doble hélice, realiza parches de reparación largos (de 30 nucleótidos o más) y requiere aproximadamente 24 horas para comple-

Figura 6.- Diagrama de los Dos Procesos de Reversión Directa en Células Humanas (Paterson, 1984).



tarse (figura 7) (108).

La reparación postreplicación no se conoce detalladamente en eucariotes, pero se postula que si durante la replicación la ADN polimerasa se encuentra con un dímero, forma un hueco postreplicativo al "saltar" e iniciar de nuevo su actividad en la parte normal de la cadena; el hueco postreplicativo es llenado "por síntesis de novo" en combinación con un intercambio recíproco de cadena con una región opuesta al sitio que contiene el dímero; o bien que la maquinaria de síntesis termina prematuramente al alcanzar el dímero y luego este extremo anormal es de alguna forma ligado durante el ensamblaje de las cadenas hijas completas (108).

En general las lesiones producidas en el ADN por los carcinógenos en células eucarióticas se pueden clasificar en: a) alteraciones de bases (substitución, degradación y/o pérdida); b) daño de azúcares; c) rompimiento de las cadenas de ADN (única y/o doble) y d) enlaces o uniones cruzadas (ADN Intracatenario, ADN Intercatenario y ADN-proteína) (figura 8) (108).

En los seres humanos se han detectado algunas enfermedades asociadas con cáncer por deficiencia en los mecanismos de reparación del ADN, como: el Xeroderma Pigmentosum, la Ataxia Telangiectasia, la Anemia de Fanconi y el Síndrome de Bloom (108,124,154).

Se postula que el daño al ADN puede conducir a:

- a) Muerte celular.
- b) Mutagénesis directa: Mutación y/o carcinogénesis.
- c) Reparación exacta.
- d) Reparación deficiente: Mutagénesis indirecta, mutación y/o cáncer.

Figura 7.- Mecanismos de Reparación del ADN por Escisión  
( Paterson, M.C., et.al., 1984).

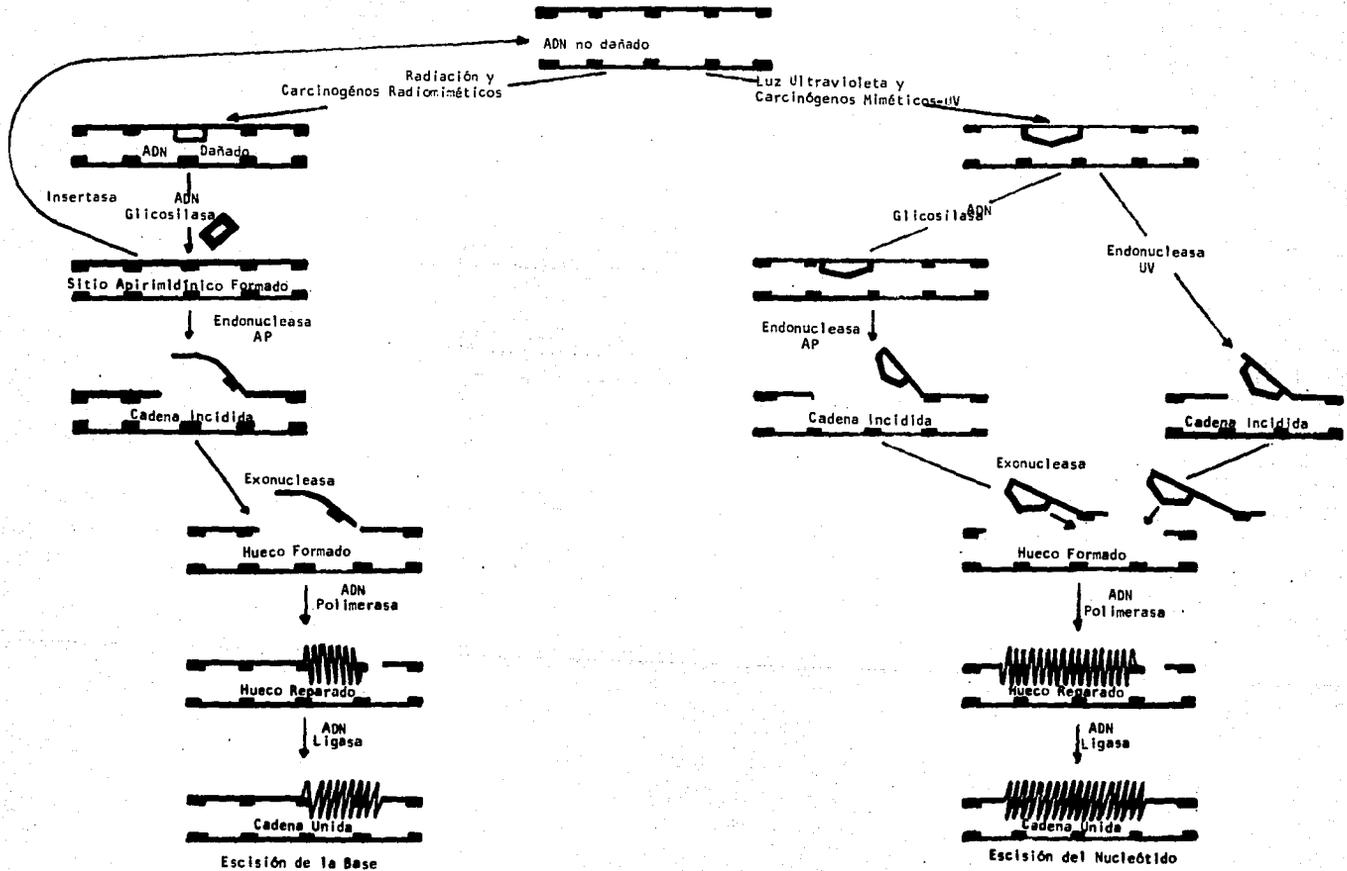
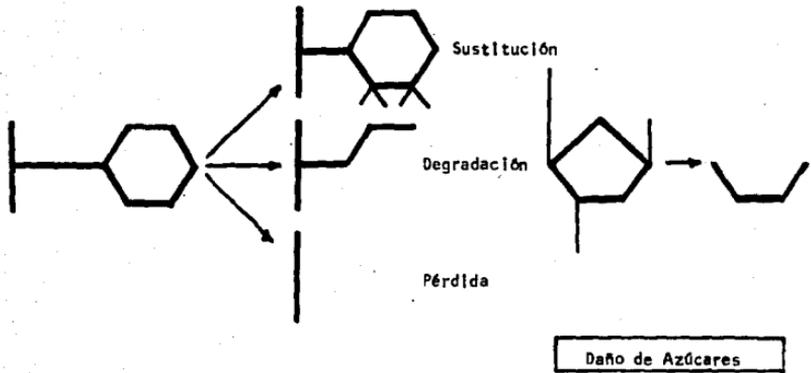
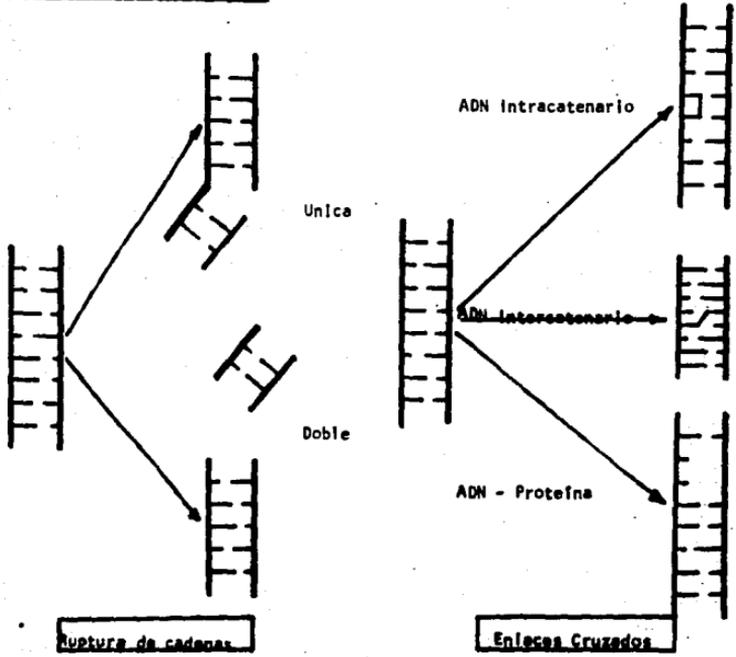


Figura 8.- Alteraciones del ADN de Células Eucarióticas por Diferentes Carcinógenos (Paterson 1984).



**Alteraciones de Bases**



O bien que la replicación del ADN lesionado puede ocasionar:

- a) Mutagénesis.
- b) Estimulación de genes y cambios epigenéticos.
- c) Activación de provirus.
- d) Diferenciación celular y participación en los mecanismos de evolución (14).

Dentro de los agentes carcinógenos biológicos se pueden citar a los virus oncógenos y a los oncogenes (12,49,72,147,150).

La carcinogénesis vírica es otra teoría sobre el origen del cáncer, la cual postula que los virus sirven como acarreadores de un oncogen de origen celular (fenómeno de transposición, aunado con los retrovirus) el cual se expresa transformando a la célula hospedadora, después de la infección viral; o bien, como consecuencia de la infección viral y la incorporación del ADN viral en el genoma de la célula se produce la activación de un protooncogen celular mediante el fenómeno de amplificación génica (49,150).

Los virus carcinógenos integran su genoma al ADN de la célula infectada, ya sea directamente como los virus ADN o indirectamente como los ARN por medio de la enzima transcriptasa reversa o inversa (ADN-polimerasa dependiente del ARN) (49).

De los 17 oncogenes de retrovirus conocidos 16 se han encontrado en el genoma normal de vertebrados, tienen la organización estructural de los genes celulares, parecen haber sobrevivido largos periodos de evolución y son activos en células normales; se les denomina protooncogenes (12).

Los posibles mecanismos de activación de los protooncogenes son: los puntos de mutación, el rearrreglo cromosómico, la amplificación génica y la activación retroviral (150).

Se ha descrito que algunos oncogenes se expresan bajo condiciones hiperplásicas, durante la embriogénesis y la regeneración tisular (125).

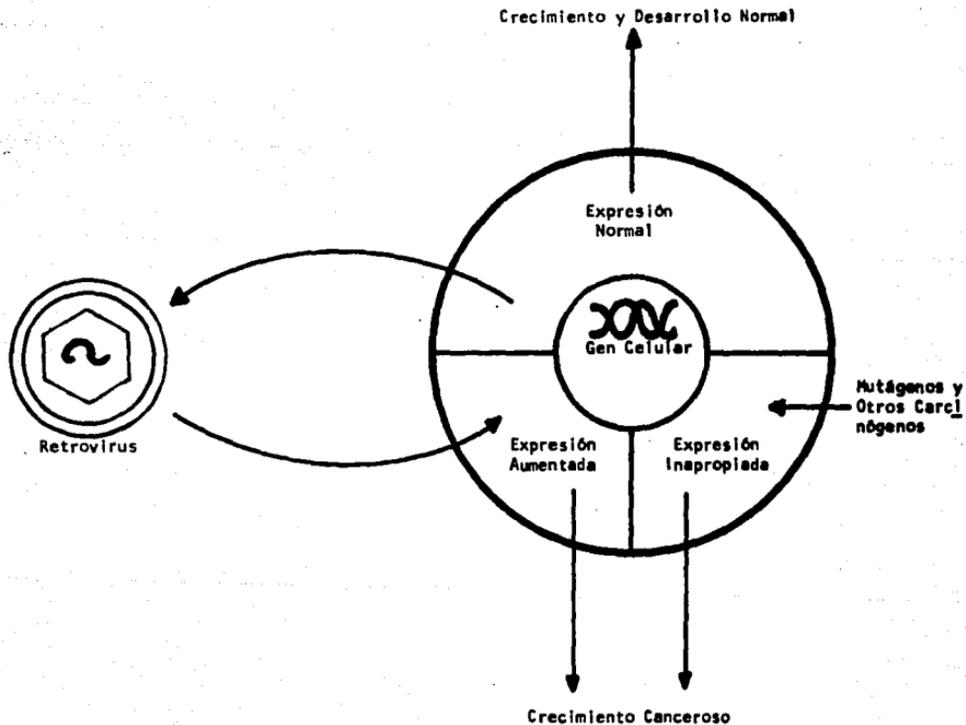
Se ha observado que las proteínas codificadas por los oncogenes tienen actividad enzimática de proteínas cinasas (enzimas que unen iones fosfato a las proteínas), específicamente al aminoácido tirosina; por ejemplo se ha visto que la proteína pp60v-src (fosfoproteína de Peso Molecular de 60 000 daltons codificada por el oncogen viral del sarcoma de Rous, Src) es una proteína cinasa que se encuentra concentrada en las placas de adhesión, unida a la membrana celular y que fosforila a otra proteína, la vinculina en la tirosina; la vinculina en células transformadas está 20 veces más fosforilada que en células normales, lo que explicaría la pérdida de unión con los filamentos de actina, la desorganización del citoesqueleto, la morfología anormal, la disgregación de las placas de adhesión y la capacidad de las células transformadas para metastizar (12,72).

La teoría genética del cáncer, establece que los protooncogenes o genes del cáncer, son componentes normales del genoma celular, cuya actividad es desatada o aumentada por los diferentes carcinógenos provocando la transformación de las células (figura 9) (12).

En general se postula que una célula cancerosa, es una célula que activó o desreprimió genes en un momento equivocado en el tiempo y en el espacio, como se observa en el caso de los teratomas (cánceres de células germinales) que cuando se colocan en un medio ambiente adecuado se diferencian normalmente dando origen a un embrión (31,73):

La carcinogénesis es un proceso de múltiples pasos, los dos pasos principales han sido designados como iniciación y promoción (125).

Figura 9.- Teoría Genética del Cáncer (Bishop, 1982).



La iniciación de la carcinogénesis resulta de la Inmortalidad celular y - el desarrollo de defectos en el control integrado de la proliferación y diferenciación de la célula madre (125).

La promoción de la carcinogénesis resulta cuando tales células madres desarrollan propiedades aberrantes autorregulatorias del control del crecimiento (125).

Los requerimientos que Barenblum estableció para la iniciación y la promoción en el proceso de la carcinogénesis son:

- a) Que las dos acciones no estén sobrelapadas en el tiempo.
- b) Ningún agente iniciador o promotor por sí sólo será significativo en la carcinogénesis.
- c) La incidencia incrementada de cáncer será observada sólo cuando el agente promotor es administrado después del iniciador y no viceversa.
- d) La variación entre el intervalo de iniciación y promoción, no afectará la incidencia final del tumor.
- e) La incidencia del tumor está relacionada con la dosis del agente iniciador (100).

La iniciación es el proceso por el cual se induce una lesión irreversible en el ADN de la célula, que la hace susceptible al agente promotor y a la expresión del fenotipo transformado; el estado de iniciación es estable y puede persistir por meses y/o años, y puede ser detectado como condición preneoplásica (125).

La progresión es el tiempo durante el cual la célula transformada se desarrolla en tumor (125).

La clasificación de los carcinógenos como: genotóxicos, iniciadores, epi-

genéticos o promotores; no parece justificado en sentido absoluto, ya que un carcinógeno puede actuar como un agente iniciador en un tejido y como un promotor en otro (100).

Las células cancerosas se caracterizan por: pleiotropía, crecimiento descontrolado, forma atípica, alto consumo de nutrientes, invasión de otros tejidos, metabolismo anaeróbico y presencia de antígenos de membrana diferentes a los de las células normales (150).

Se ha observado que la mayoría de los cancerosos mueren por las metástasis del tumor primario (103).

Se considera un tumor benigno, cuando posee una estructura histológica similar a la del tejido que lo origina, crece lentamente por expansión, está encapsulado por tejido conjuntivo y los núcleos de sus células se dividen casi normalmente con pocas anomalías cromosómicas (103).

El tumor maligno es de arquitectura histológica diferente a la del tejido que lo origina, crece rápidamente, no está encapsulado, tiene muchas divisiones nucleares, presenta aberraciones cromosómicas e invade otros tejidos (103).

La secuencia del mecanismo de la metástasis cancerosa es:

- a) Extensión a los tejidos circundantes.
- b) Penetración a las cavidades y tejidos del cuerpo.
- c) Desprendimiento de células tumorales para su desplazamiento a otras zonas.
- d) Reinvasión del tejido en el punto de localización.
- e) Alteración del tejido nuevo para facilitar la supervivencia, vascularización y desarrollo de las células tumorales (103).

Dentro de las cualidades que tienen las células tumorales malignas para poder metastaziar están: la producción de gran cantidad de la proteasa catépsina B,

su capacidad para adherirse a los linfocitos, plaquetas y células endoteliales; induciendo la producción de fibrina que les sirve de soporte, la inducción de la "contracción" de la célula endotelial para poder salir del vaso sanguíneo y la producción de "factores angiogénicos tumorales" que le aseguran el aporte de nutrientes para su proliferación; también se ha observado que la afinidad o tropismo de una célula cancerosa por determinado órgano o tejido depende de las proteínas de su membrana celular (103).

Se menciona en la literatura que 1/3 de los casos de cáncer en el hombre y 2/3 en la mujer están relacionados con desequilibrios en la dieta: dietas ricas en grasas y calorías, y deficientes en fibras o vitaminas; el ahumado y las frituras predisponen al cáncer; las vitaminas, antioxidantes, verduras, frutas y cereales son alimentos protectores (86).

Los hidrocarburos policíclicos (alquitranes) como el benzopireno son mutagénicos, se forman al sobrecalentar aceites y grasas; la pirólisis de proteínas y aminoácidos produce compuestos mutagénicos a partir del triptófano, ácido glutámico, globulinas, histonas, caseína y gluten (86).

Las fibras vegetales protegen contra el cáncer de colon al arrastrar o neutralizar los mutágenos con el bolo fecal; las crucíferas protegen también contra el cáncer de colon y estómago, contienen indoles que in vitro protegen contra el benzopireno; la vitamina A (retinol) y el ácido ascórbico protegen contra el cáncer epitelial, la primera como agente antioxidante y el segundo al evitar la conversión de los nitritos y nitratos en nitrosaminas (86).

Una dieta protectora contra el cáncer estaría basada en: consumo de crucíferas, frutas y verduras ricas en beta carotenos y ácido ascórbico; y disminución en el consumo de alimentos salados y ahumados (86).

La teoría de la vigilancia inmunológica sostiene que la inmunidad celular tiene un papel relevante en la búsqueda y eliminación de las células tumorales y que la aparición de un tumor se debe a una falla de la respuesta inmune (17).

La malignidad de las neoplasias reside en el ADN, lo cual se reflejará entre otras cosas en las proteínas y glicoproteínas de la superficie celular; - las cuales al cambiar o alterarse se tornarán extrañas al organismo y por lo tanto potencialmente inmunogénicas (147).

De acuerdo con la teoría de la vigilancia inmunológica de Burnet, se postula que la aparición de una neoplasia se debe a una falla de la respuesta inmune; la cual puede estar mediada por mecanismos inmunosupresores; las células supresoras inespecíficas o específicas son generadas antes o durante el crecimiento tumoral, las primeras provocan una inmunosupresión generalizada y a la vez bloquean la respuesta inmune antitumoral, la última es generada por los antígenos tumorales como un mecanismo regulatorio para bloquear la actividad citotóxica específica del sistema inmune (17,147).

Después de revisar en forma somera el proceso carcinogénico podemos suponer que los APs producen cáncer por:

- a) Su activación metabólica o biotransformación hepática, hacia los respectivos pirroles que tienen actividad alquilante sobre el ADN.
- b) Al actuar como agentes alquilantes, superan de alguna forma la actividad de las enzimas involucradas en el proceso de reparación del ADN; lo que a la postre se puede reflejar en un proceso canceroso.
- c) Que su actividad alquilante sobre el ADN, active o desreprima algún protooncogen o provirus presente en el genoma de la célula transformándola.

d) Que su actividad alquilante tenga un efecto inmunosupresor directo o indirecto; o bien que las células cancerígenas presenten algún mecanismo de inmunoevasión y que la neoplasia no sea eliminada por el sistema inmune.

Se ha reportado que los APs producen en general una incidencia del 25% de hepatomas y 5% de otros tumores (94).

Todos los APs carcinogénicos reportados son ésteres cíclicos; no se han reportado hepatomas en ovinos, bovinos, equinos, suínos y aves intoxicadas con APs (94).

También se ha descrito que los APs tienen actividad antimitótica y que producen en hígado, riñón, pulmón e intestino megalocitosis y poliploidia (33, 94).

A continuación se dará brevemente una descripción del ciclo celular para posteriormente discutir la patogenia de los APs en la megalocitosis y poliploidia.

Todas las células animales presentan un ciclo celular o biológico definido, el cual se describe como el período que transcurre del inicio de una mitosis al principio de la siguiente (75).

En general el ciclo celular se divide en: interfase, mitosis e interfase; la interfase a su vez consta de los siguientes períodos: G1, S y G2; durante la interfase ocurren todos los mecanismos bioquímicos y estructurales necesarios para que se produzca la mitosis. La mitosis es en sí, el proceso de la división celular y está formado por las siguientes fases: profase, metafase, anafase y telofase (62,75,92,106).

De acuerdo a su ciclo celular Leblond clasifica las células del organismo en:

- a) Categoría 1: Células que como consecuencia de su gran especialización ya no son capaces de dividirse; un ejemplo de este tipo de células son las neuronas; también se les conoce como células permanentes (62).
- b) Categoría 2: Células especializadas que son reemplazadas periódicamente (epitelios, células sanguíneas) por medio de la división de células madres o germinativas poco diferenciadas y que conservan aún su capacidad para dividirse; también se les conoce como células lábiles (62).
- c) Categoría 3: Son células especializadas que bajo determinadas circunstancias (regeneración del tejido por alguna lesión) son capaces de dividirse; como los hepatocitos y las células renales; también se les conoce como células estacionarias (62).

En una célula en cultivo de tejidos cuyo ciclo celular dura 24 horas (tiempo de generación), la fase G1 se completa en 10 horas, la fase S en 9 horas, la fase G2 en 4 horas y la mitosis en una hora (62,75).

En general las diferencias en el tiempo de generación o en la duración del ciclo celular de las diferentes células del organismo, reside en la duración de la fase G1; ya que el tiempo que tardan en completarse las demás fases es más o menos similar (62,75,92,106).

Las células animales que están en un estado latente, de crecimiento nulo, se dice que están en una fase G1 prolongada o en la fase G0; en la cual las células ya no están ciclando, como por ejemplo las neuronas (106).

Se dice que hay un punto de restricción o de no retorno, entre la fase G0 o G1 y la fase S; en el cual si la célula lo logra pasar, irremediamente pasa a la fase S y a la postre terminará su ciclo celular (92,106).

Durante el ciclo celular, la célula se encuentra en un estado dinámico en-

el cual hay cambios morfológicos y bioquímicos importantes (75,92,106).

Algunos cambios que ocurren en la fase G1 están asociados entre otros factores con: factores de crecimiento, presencia de cationes divalentes; cambios en la superficie celular, transporte de nutrientes, síntesis y degradación de proteínas, ARN, nucleótidos cíclicos, poliaminas y cambios nucleares (75,92,106).

Los factores de crecimiento son hormonas polipeptídicas de bajo peso molecular (11 000 a 18 000 daltons) que tienen propiedades mitogénicas en algunos sistemas (106).

Se ha descrito que los cationes divalentes ( $\text{Ca}^{+2}$ ,  $\text{Mg}^{+2}$ ) son necesarios para que la célula pase de la fase G1 a la fase S (106).

La membrana celular es una estructura dinámica, la cual se modifica y juega un papel importante en la regulación del ciclo celular; se ha observado que los glicosaminoglicanos inhiben el crecimiento celular dependiente de la densidad o por contacto (106).

En el estado de latencia G1, la velocidad de transporte de nutrientes de bajo peso molecular es pequeña, como consecuencia de un mecanismo adaptativo de retroalimentación para disminuir el acceso de nutrientes (106).

La síntesis de proteínas aumenta cuando las células son estimuladas hacia la fase S aunado con un incremento de ARN; aunque el incremento de ARNm no es producto de una elevación en el proceso de transcripción, ya que no hay cambio en la velocidad de síntesis de ARNh<sub>n</sub> (ARN heterogéneo nuclear) (106).

Se ha observado que el 90% del ARNm codifica para las mismas proteínas, tanto en células en latencia como en proliferación; por lo que el 10% restante es probable que sean responsables del estado de latencia y/o proliferación (106).

Se ha descrito que el GMPc es el mensajero intracelular que induce la divi

sión celular y limita la diferenciación; en cambio el AMPc inhibe la división celular y promueve la diferenciación; la relación AMPc/GMPc cambia en función del ciclo celular (106).

Cuando las células son estimuladas para crecer hay un incremento de poliaminas (putrescina, espermina y espermidina) y de la enzima responsable de su síntesis, la ornitina descarboxilasa (106).

Cuando las células son estimuladas hay cambios en la cromatina que representan la preparación de los genes para la síntesis de ADN; entre los que se incluye la síntesis de proteínas nucleares no histonas, su fosforilación y de posición sobre el ADN (106).

En la fase S se realiza la replicación del ADN; en las células eucarióticas el genoma está dividido en varios cromosomas, a su vez cada fibra de ADN está dividida en muchas unidades replicantes llamadas replicones, los cuales se originan en secuencias repetidas invertidas llamadas palíndromos. La replicación del ADN es un proceso discontinuo que va en dirección del extremo 5' al extremo 3'; en el cual intervienen las enzimas: helicasas, ADN polimerases y ligasas; también durante la fase S se realiza la síntesis y fosforilación de las histonas (106).

En la fase G2 hay un punto débil de restricción; durante las fases G1 y G2 el ADN está disponible solamente para la transcripción y durante la fase S se realiza la replicación (86,106).

En la megalocitosis el hepatocito no termina la mitosis, es decir se realiza la cariocinesis o división nuclear pero no la citocinesis o división citoplasmática; por lo que los hepatocitos aumentan de tamaño y presentan varios núcleos (poliploidía); las posibles explicaciones son: el hepatocito omi

te la mitosis al pasar de G2 a G1; que pase de la profase temprana a G1 y por último pase de la metafase a G1 (94).

## Metabolismo.

La farmacocinética de cualquier tóxico involucra los siguientes pasos: ingestión o vía de entrada, absorción, distribución, biotransformación y excreción (57).

En los animales en pastoreo la vía de entrada de los APs es la oral, en los ovinos y caprinos se ha descrito que los APs son detoxificados por efecto de los microorganismos ruminales hacia un derivado metilado (27,41,94); fenómeno que no ocurre en los bovinos.

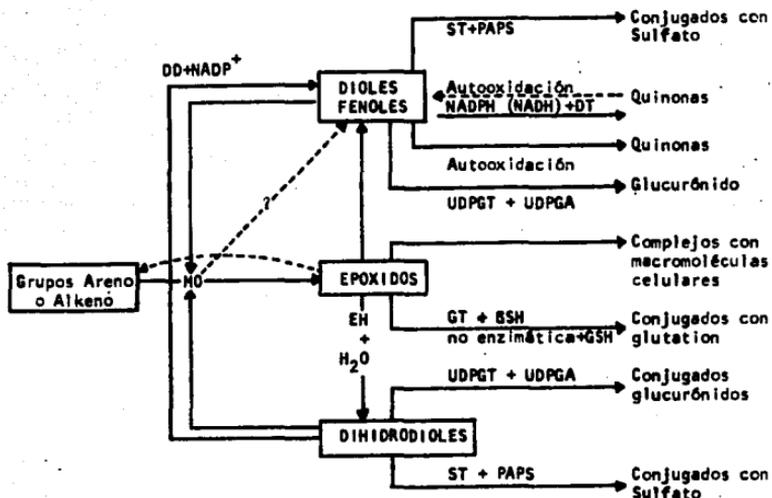
La absorción se lleva a cabo en yeyuno e ileón (141), pasan los APs a el torrente sanguíneo y por medio de la vena porta llegan al hígado, donde son metabolizados por acción de las enzimas: aminopirina n-dimetilasa, citocromo - P-450 y el sistema de función mixto monooxigenasa; las cuales se encuentran en los microsomas y retículo endoplásmico del hepatocito, produciendo pirroles, - N-óxidos y epóxidos (131,133,135,140).

Parece haber una relación directa entre las reacciones de detoxificación, cuya función es convertir sustancias hidrofóbicas a productos hidrosolubles, - los cuales pueden ser excretados en la orina y la bilis; y la toxicidad aguda y crónica de ciertos agentes genobióticos (figura 10) (133).

El fenobarbital es un inductor de las enzimas microsomas hepáticas, por lo que aumenta la producción de pirroles y la susceptibilidad de los animales (61).

Los fetos y los recién nacidos (Incluyendo al hombre) carecen de las enzimas microsomas hepáticas, las cuales se desarrollan durante las primeras semanas de vida y alcanzan los valores de adulto al destete (94).

Figura 10.- Vías del Metabolismo de Grupos Areno y Alkeno en Substancias Genobióticas (Seidegard, 1982).



MO = Monooxigenasa  
 EH = Epóxido Hidrolasa  
 DD = Diol Deshidrogenasa  
 DT = DT-Diaforasa  
 ST = Sulfotransferasa  
 GT = Glutation S-Transferasa(s)  
 UDPGT = UDP-Glucuroniltransferasa  
 PAPS = 3'-Fosfoadenosina-5'-Fosfosulfato  
 GSH = Glutation Reducido  
 UDPGA = UDP-Acido Glucurónico.

Los APs desaparecen rápidamente de la sangre (1 hora), más de la mitad de la dosis es eliminada en forma intacta por la orina; otra fracción es excretada a través de la bilis y se encuentran los APs en hígado, intestinos y riñones (94). Los pirroles han sido encontrados en ratas en los siguientes tejidos: hígado, pulmón, corazón, bazo y riñón; en el hígado se encuentran en mayor concentración asociados a los microsomas (94).

Los APs o sus metabolitos atraviesan la placenta en ratas y bovinos, produciendo daño hepático en los fetos (11,48,56,75).

Los APs y sus metabolitos se transmiten a través de la leche en las ratas, vacas y cabras alimentadas con Senecio jacobaea; sin embargo no se encontraron lesiones sugestivas de intoxicación por APs en sus respectivas crías; los APs que se encontraron son jacolina (en vacas y ratas) y jacozina (los 2 APs en la leche de cabras), los cuales no son los más tóxicos del Senecio jacobaea (11,42,43,48,75,78,129).

La principal vía de eliminación de los APs es la orina; la velocidad de eliminación urinaria está relacionada con el pH de la luz tubular, grado de ionización y reabsorción de los APs por los túbulos renales; a pH ácido los APs son ionizados y se tornan más hidrosolubles, por lo que la eliminación urinaria es más rápida y a pH alcalino (herbívoros) aumenta la reabsorción tubular (141).

En el hígado hay varios tipos de células: parenquimatosas, hepatocitos; y no parenquimatosas, células de Kupffer, endoteliales, epiteliales biliares y fibroblastos (82).

Siguiendo la corriente sanguínea 2 zonas diferentes pueden ser diferenciadas en el acini y en el lobulillo: La zona periportal (eferente) irrigada con-

sangre rica en oxígeno, substratos y hormonas; y la zona perivenosa (eferente) que recibe sangre pobre en oxígeno, substratos y hormonas, pero rica en  $\text{CO}_2$  - (82).

La zona perivenosa realiza las siguientes funciones: glicólisis, liponeogénesis, ureagénesis de  $\text{NH}_4$ , y biotransformación (82).

El consumo de Senecio jacobaea estimula la actividad de la epóxido hidrolasa y de la glutatión-S-transferasa en la rata; y decremanta la actividad de la enzima aril hidrocarbano hidroxilasa (92).

Las alteraciones en los niveles y actividad de las enzimas epóxido hidrolasa y glutatión-S-transferasa pueden influir en el metabolismo y quizá la toxicidad de los APs (97).

### Susceptibilidad de especie.

La susceptibilidad o resistencia de una especie a la intoxicación por los APs está dada por: el grado de destoxificación ruminal (bovinos y ovicaprinos), absorción intestinal, conversión de los APs hacia pirroles por las enzimas de la función mixta oxidasa del hígado y el grado de eliminación urinaria de los APs (140).

La producción in vitro de pirroles por los microsomas hepáticos en varias especies y en orden decreciente es como sigue: hamster macho, conejo macho, ratón macho, rata macho, toro, rata hembra, carnero, pollo y codorniz japonesa; con la excepción del conejo y el pollo parece haber una relación directa entre la producción de pirroles en hígado y la susceptibilidad a la intoxicación por los APs (19,136).

Los conejos son resistentes a la intoxicación de APs, a pesar de que si tienen la capacidad enzimática para producir los pirroles; se sugiere que su resistencia se debe a la rápida eliminación de los APs y sus metabolitos por vía renal, ya que se ha demostrado que si se absorben a nivel de yeyuno e ileón (113,141).

La resistencia de los ovinos a la intoxicación de APs no es debida a la destoxificación ruminal de los APs, sino a la baja producción de pirroles en el hígado y a la alta actividad de la enzima destoxificante epóxido hidrolasa (152).

Dentro de los animales domésticos y de interés pecuario, los bovinos y los equinos son los más susceptibles; mientras que los ovinos, caprinos y leporinos son los más resistentes (140).

A continuación se dan algunos ejemplos de las LD<sub>100</sub> y letal crónica de Senecio jacobaea para algunas especies:

Especie	DL <sub>100</sub>	Especie	Dosis Letal Crónica
Cuyos	526% de su p.c.*	Ovinos	1,9 kg/kg de su p.c.
Ratas	58% de su p.c.	Caprinos	1,25-4,04 kg/kg de su p.c.
Bovinos	5-20% de su p.c.	Bovinos	0,14 kg/kg de su p.c.

\* p.c. = peso corporal.

Se ha encontrado que una dieta suplementada con cobre, incrementa la susceptibilidad de las ratas a la intoxicación por Senecio jacobaea; ya que el cobre se acumula en las mitocondrias, lisosomas y microsomas; probablemente promueva la labilización de las membranas y la destrucción celular (98).

## Diagnóstico.

Un diagnóstico específico de intoxicación por APs es muy difícil, en la intoxicación aguda una buena historia clínica y pruebas de laboratorio (funcional hepático, biopsia hepática, niveles de transaminasas y de amonio sérico) pueden confirmar el diagnóstico; cuando el problema se torna crónico es más difícil su diagnóstico, porque se confunde con otros padecimientos hepáticos (parasitarios, bacterianos, virales, metabólicos y por otras intoxicaciones) y es difícil relacionarlo con el consumo de la planta tóxica. El único medio efectivo de diagnóstico de envenenamiento de APs en estadios tempranos es la biopsia hepática y las pruebas analíticas útiles al diagnóstico; son las pruebas de funcionamiento hepático, remoción sérica de bromosulfaleína, biopsia hepática y niveles séricos de amoniaco (18,36,54).

El estudio histopatológico juega un papel importante en el diagnóstico de la intoxicación por APs; ya que como se observará en los apartados de patología y metabolismo de los mismos; el organo blanco y donde son activados metabólicamente a pirroles es el hígado, en el cual se produce una gama de lesiones características como: megalohepatocitosis, cariomegalia, poliploidia, necrosis y proliferación de conductos biliares.

En el diagnóstico histopatológico debe descartarse, antes la presencia de algunas o todas las lesiones anteriores, la intoxicación por aflatoxinas; micotoxinas que también tienen actividad alquilante y son activadas en el hígado produciendo lesiones similares a las de los APs.

### Signos Clínicos.

Los signos clínicos de la intoxicación con APs son variables en presencia e intensidad, dependiendo de la especie animal (cuadro 1), el tiempo de exposición de los animales a las plantas tóxicas, parte de la planta consumida, estado nutricional y manejo en general (15,27,35,99,105).

Los signos clínicos en bovinos son: pérdida de peso, debilidad, decaimiento, tendencia a separarse del hato, rechazo al movimiento, ptialismo, diarrea algunas veces con sangre, las heces también pueden ser negruzcas y líquidas, hay tenesmo marcado que predispone al prolapso rectal, inapetencia y constipación. Los desórdenes nerviosos en bovinos se manifiestan como manías, mugen periódicamente y presentan convulsiones, algunas veces parecen ciegos y no responden a la luz, embisten paredes, objetos o cercas y son posiblemente resultado de la hiperamonemia como consecuencia de la falla hepática. Presentan la piel rugosa y suave, hay frotamiento constante de la piel, el pelo se torna áspero, hay costras alrededor de los ojos y nariz; los animales despiden un olor dulce desagradable (semejante al olor del cerdo) en el período terminal de la toxicosis; en las fases terminales hay progresivo estupor que termina en coma, sobreviniendo la muerte posteriormente. También se ha visto que los animales pueden parecer normales por muchas semanas o meses después de ingerir una dosis letal acumulativa de APs y mueren solo cuando el número suficiente de hepatocitos dañados irreversiblemente dejan de funcionar completamente y no son regenerados; o éstas células son expuestas a un esfuerzo metabólico que no pueden tolerar (alteraciones nutricionales, cetosis, enfermedades concomitantes). Las formas agudas son raras, los signos clínicos tem

pranos con caquexia, diarrea y debilidad; la ictericia es común pero no siempre está presente, los signos neurológicos aparecen a medida que progresa la cirrosis hepática (2,28,46,47,48,50,54,77,80,81,94,99,106,108,124).

En los ovinos se presenta cierta resistencia a los APs, presentan los siguientes síndromes:

- a) Muerte súbita producida por hiperamonemia como resultado de la falla hepática.
- b) Muerte súbita con hemoglobinuria, por crisis hemolítica producida por intoxicación con cobre, se pueden presentar algunos casos con ictericia.
- c) Falla hepática progresiva que conduce a la muerte.

En los tres síndromes los animales presentan hígados pequeños con megaloцитosis (58,94,119).

En los equinos los signos clínicos son principalmente neurológicos, hay excitación nerviosa con violencia, somnolencia y andar vacilante con pérdida de condición, inapetencia, constipación y cólico; las membranas mucosas se tornan ictericas, hay estreñimiento frecuente que no se asocia con diarrea, el animal puede permanecer en desmedro por semanas o meses, pueden presentar lesiones en estómago y esófago; los signos nerviosos se asocian con hiperamonemia (28,94).

En cerdos se ha reportado que en la seneciosis presentan disnea y decaimiento (54,57,104).

En los pollos y pavos se presenta somnolencia, decaimiento, falta de apetito, diarrea y disnea (54,58,61).

En las ratas y ratones hay pérdida excesiva de peso, ligera diarrea, disminución en el consumo de alimento, ésta disminución es más apreciable dos semanas antes de morir (50,94,124).

Generalmente el curso de la seneciosis en todas las especies es crónico, el tratamiento de ésta intoxicación no evita la muerte; una vez que los signos clínicos se presentan el pronóstico es fatal (50,81).

Cuadro 1.- Toxicidad comparativa del Senecio jacobaea en animales domésticos y de laboratorio (24).

Especies	<u>Senecio jacobaea</u>			
	Dieta (%)	Ingestión (g)	Ingestión como % del peso corporal	Tiempo de vida (días)
Bovinos	2.5	7900	3.6	225
Ovinos	20-40*	42600	302.0	161
Caprinos	25	56950	205.0	543
Equinos	5	6500	7.3	187
Conejos	5-10**	2336	112.5	Todos sobrevivieron.
Gerbils	30	979	3640.0	333
Cobayos	10	234	119.0	117
Hamsters	10	173	338.0	159

\* 20% del día 1 al 105 de tratamiento y 40% después del día 105.

\*\* 5% del día 1 al 90 de tratamiento y 10% después del día 90.

## Patología.

La intoxicación por APs en los animales produce diversos grados de lesiones en diferentes órganos de la economía, el órgano más afectado es el hígado.

El hígado presenta una combinación característica de hemorragia, necrosis y cirrosis (13,14,39,74,81,90,105); el hígado es pequeño, de forma irregular, pálido por la cirrosis y el engrosamiento de la cápsula de Glisson o moteado por la destrucción de eritrocitos, pudiendo presentar una esteatosis parenquimatosa con proliferación de conductos biliares; se ha mencionado que hay un aumento de tamaño de la vesícula biliar con la pared engrosada y edematosa; en equinos hay hepatomegalia y congestión hepática (5,9,16,39,74,75,126,127,129).

Algunos autores señalan que la intoxicación produce una hepatitis crónica de origen portal (93) y otros de origen centrolobulillar, progresando a necrosis y posteriormente a una cirrosis; esta necrosis centrolobulillar se ha experimentado en ratas con una sola dosis de APs de 50 a 105 mg/kg (21,89,93,96, - 126,129,138); en el hígado se observa una endoflevitis centrolobulillar o destrucción parcial de la vena, la intoxicación por APs da lugar a un crecimiento exuberante de tejido conectivo, esta fibrosis difusa generalizada lesiona la capa íntima de las venas resultando en una venooclusión (16,46,51,53,58,67,68-76,89,129).

Markson (1960) considera que la proliferación de conductos biliares y la enfermedad venooclusiva son lesiones primarias y no consecuencia una de la otra (53). En el tejido conjuntivo se encuentran células reticuloendoteliales, fibroblastos, macrófagos, mastocitos, células plasmáticas y leucocitos (6,75, - 87,96).

Es posible observar severas lesiones de mineralización de los tejidos - blandos y una degeneración hepática con imágenes de regeneración (3,6,52,126, 127,128,139).

Las lesiones microscópicas en los núcleos de los hepatocitos son muy aparentes, se considera que es un efecto primario la alquilación de los APs sobre el ADN del núcleo celular, este se encuentra agrandado, generalmente al doble de su tamaño normal; en ratas con una sola dosis de retrorsina de 33 - mg/kg se han encontrado núcleos cuatro veces más grandes (2,6,22,107,130).

En la célula frecuentemente se observa poliploidia, con núcleos irregulares o incluso fragmentación del núcleo. Los nucleólos también se ven afectados, se encuentran disgregados con aumento de tamaño y en algunos casos disminución de este. Se ha señalado el incremento de poros nucleares o invaginaciones de la membrana nuclear, llenas de organelos que protegen al nucleoplasma, algunas se separan de la membrana y forman inclusiones nucleares con su membrana, otras invaginaciones resultan de una mezcla de constituyentes nucleares y citoplasmáticos y el número aumentado de gránulos de pericromatina. La presencia de vacuolas intranucleares eosinofílicas en ocasiones neutrofílicas con un anillo basófilo que se tiñe con PAS (tinción del ácido peryódico de Schiff), es otra alteración frecuente. Los cromosomas se encuentran en mayor número, pegados o fragmentados, el ARN aparentemente se encuentra normal y el ADN aumentado hasta doscientas veces y se ha comunicado de la presencia de muchos centriolos (2,6,7,11,22,79,80,107,127,138).

En el citoplasma de los hepatocitos hay un cambio en el patrón de los organelos: las mitocondrias son variables en forma y tamaño, con gránulos de glucógeno muy aparentes; los lisosomas se encuentran aumentados en número, -

hay proliferación del aparato de Golgi con cambios en su distribución. En cuanto al retículo endoplásmico rugoso se han obtenido resultados contradictorios, en algunos casos se han observado proliferación de éste y en intoxicación con Crotalaria se presenta disminución y modificación del retículo endoplásmico rugoso con una disminución en los ribosomas adosados y aumento del tamaño del retículo endoplásmico liso con numerosas vesículas (2,6,138).

Por todos los cambios descritos en los organelos del hepatocito, los APs tienen efecto antimitótico; la lesión más frecuente es la megalocitosis, la célula es de 2.5 a 3 veces más grande de su tamaño normal; aún en ovinos, los cuales se dice tienen cierta resistencia a los APs (6,27,30,53,68,107,121,127,128,129,138).

En pollos alimentados con S. iacobaea el agrandamiento del núcleo es el primer cambio, hay megalocitosis pero no hay venooclusión ni proliferación del tejido fibroso, además en pollos no hay efecto antimitótico sino que se desarrollan nódulos de células proliferantes, hay una hiperplasia temprana y necrosis posterior en el hígado, probándose una marcada diferencia de especies (58).

Los riñones tienen consistencia firme y superficie irregular, las alteraciones vasculares son masivas: congestión glomerular, edema en la cápsula de Bowman y mesangiolisis, hemorragias generalizadas o focales en el parénquima; algunas veces hay glomerulosclerosis y degeneración grasa, estrias blanquecinas que se internan en la corteza. La más frecuente alteración es la megalocitosis en las células epiteliales del túbulo proximal, el asa de Henle y el glomérulo (5,6,36,48,68,84).

En el pulmón se ha encontrado congestión, edema, arteritis pulmonar hasta

venooclusión, enfisema con rompimiento del tejido pulmonar y líquido tisular debajo de las membranas, alrededor de los lóbulos pulmonares, aproximadamente el 20% de los animales mueren con este cuadro pulmonar, hay una adenomatosis pulmonar por metástasis (15,27,36,44,48,68,131).

En el tracto gastrointestinal como efectos secundarios en todas las especies encontramos congestión, edema asociado a los ganglios linfáticos y mesentéricos, hemorragias petequiales en la mucosa del estómago e Intestino delgado y una severa ulceración del estómago. En equinos produce enfermedad del esófago con laminitis, que se conoce con el nombre de "Chullagoe Horse Disease" que se caracteriza por una ulceración esofágica y mucosa escamosa del estómago. En Sud África y la India se ha observado esta lesión en bovinos y ovinos por intoxicación con *Crotalaria* (94).

La luz estomacal está llena de restos eosinofílicos, leucocitos y fragmentos de células, las glándulas mucosales se encuentran dilatadas, y el epitelio aplanado. Hay prolapso rectal en bovinos, probablemente como respuesta fisiológica al edema en Intestino como consecuencia de la fibrosis hepática (5,36,44,46,48,51,80,128,129).

El Sistema Nervioso se ve afectado por una hiperamonemia que se traduce en degeneración esponjosa del SNC en ovinos, bovinos, equinos y cerdos; alteración de las células de Alzheimer tipo II (astrocitos degenerados), no hay cambios macroscópicos; histológicamente se puede apreciar edema masivo, sin hemorragia o exudación y proliferación de astrocitos, todos estos cambios se presentan como consecuencia de una enfermedad hepática. Se puede hacer un diagnóstico diferencial con hipoxia cerebral, uremia, avitaminosis B, hipoglucemia, trauma cerebral, epilepsia psicomotora u otras causas de signos nerviosos simi

lares (1,68,93).

En el páncreas hay edema, fibrosis, alteración vascular y megalocitosis; en el bazo hay hipoplasia o esplenomegalia por la destrucción de eritrocitos - en el hígado y que son metabolizados en dicho órgano (15,27,28,68,128).

En glándulas adrenales y Harderianas la intoxicación por APs produce megalocitosis, los ganglios se encuentran agrandados y en el timo, testículos y médula ósea inhiben la mitosis (15,68,128).

Hay represión de folículos linfoides y timo en ratas y equinos; y degeneración testicular en ratones y Drosophila melanogaster (128).

Hay un bloqueo de la transmisión neuromuscular ya que los APs tienen efecto anticolinérgico (44).

Se sabe que los APs actúan como agentes teratogénicos y abortigénicos, ya que atraviesan la placenta y causan cambios en el feto; además son mutagénicos en Drosophila y causan rompimiento cromosómico en algunas plantas y producen neoplasias en ratas. Se ha visto que ratas inyectadas por vía intraperitoneal con retrorsina (40 mg/kg) a la mitad de la gestación ocasiona en el feto agrandamiento de los sinusoides hepáticos, hemorragia y cambio en la arquitectura hepática. Una dosis similar a lactantes de la misma camada los llevó a la muerte y una dosis reducida (30 mg/kg), les produjo megalocitosis, áreas focales de necrosis, proliferación de células endoteliales y cambio grasa. En ratas tratadas con heliotrina en el segundo día después del parto se observaron los siguientes cambios en los lactantes: edema e infiltración inflamatoria del tracto portal en 4 semanas, a la quinta semana hay necrosis focal, marcada variación en el tamaño nuclear de los hepatocitos con infiltración mononuclear intraportal y congestión de los sinusoides a las diez semanas con pigmentos de hierro-

en la pulpa roja del bazo. En la semana 13a. las células están agrandadas con núcleos hipercrómicos y células gigantes multinucleadas, pequeños conductos biliares, numerosos y proliferantes, estos cambios persisten hasta llegar a una trombosis veno hepática con lesiones granulomatosas alrededor (11,44,75, 128,129,131).

### Hiperamonemia y Degeneración Esponjosa.

Como consecuencia de la disfunción hepática producida por la intoxicación con los APs se presenta el síndrome de encefalopatía hepática, principalmente en equinos y bovinos (1,50,80,93,144,145).

El síndrome de encefalopatía hepática se caracteriza por hiperamonemia resultante de la falla hepática para metabolizar el amoníaco digestivo hacia urea (66,93).

El Sistema Nervioso Central es muy vulnerable a la hiperamonemia por su dependencia de energía, ya sea que:

- 1) El amoníaco se combina con el alfaetoglutarato para formar ácido glutámico.
- 2) El ácido glutámico se combina de nuevo con el amoníaco formándose la glutamina.
- 3) O bien que el amoníaco se una a la glucosa produciendo glucosamina.

El efecto de cualquiera de las tres reacciones anteriores es el mismo, consumen e interfieren con la producción de energía; a nivel cerebral se observa disminución en el consumo de oxígeno, ATP y NADH e incremento en la concentración de glutamina (93).

El amoníaco estimula al centro respiratorio, produciéndose hiperventilación, alcalosis respiratoria y formación de iones amonio que se difunden con más facilidad al cerebro agravando el cuadro (93).

Los signos clínicos de la hiperamonemia en todas las especies son: somnolencia; desorientación, agresividad, ataxia, ceguera e inquietud progresando hasta estupor y coma (1,50,66,80,93,144,145).

A la necropsia el hígado se encuentra fibrótico y duro, en la histopatología el cerebro presenta edema masivo, degeneración esponjosa o polimicrocavita

ción tanto en la substancia blanca como en la substancia gris; y la presencia de células de Alzheimer tipo II (astrocitos degenerados) (1,50,66,80,93,144, - 145).

Laboratorio Clínico.

En general los animales intoxicados experimentalmente con los APs presentan alteraciones séricas indicativas de disfunción hepática, tales como: hipoproteïnemia asociada a la disminución de la relación albúmina/globulina, anemia e incremento en la concentración sérica de las siguientes enzimas: transaminasa glutámico oxalacética, deshidrogenasa láctica, gama glutamil transpeptidasa, sorbitol deshidrogenasa, aspartato amino transferasa, alanina amino transferasa, fosfatasa alcalina, deshidrogenasa glutámica y ornitina carbamil transferasa; además de hiperamonemia (6,7,10,18,24,58,66,68,79,93,110,111,129,144,149).

En ratas intoxicadas experimentalmente y en ovinos intoxicados naturalmente con APs también se observa incremento del cobre hepático, esplénico, renal y sérico; además de incremento del fierro hepático (141,142).

El grado de remoción sérica de la bromosulfaleína (sulfonato sódico de fenol tetrabromftaleína) es una prueba indicativa del funcionamiento hepático; la bromosulfaleína es un colorante que inyectado por vía intravenosa se une a la albúmina sérica, en el hepatocito se conjuga con el glutatión y se excreta por la bilis. La curva de remoción es bifásica: una fase rápida de 2.5 a 7.5 minutos postinyección y una fase lenta de remoción después de 15 minutos de la inyección; la remoción es lineal durante la fase rápida (10,87,93,148).

### Tratamiento.

El tratamiento preventivo y/o curativo para la intoxicación por APs no existe como tal; tomando en cuenta las características epizootológicas de la enfermedad y el curso crónico que presenta, cuando llega a diagnosticarse el daño hepático es irreversible con todas las secuelas que la falla hepática conlleva.

Sin embargo se han intentado algunas estrategias profilácticas y terapéuticas con resultados variables (35,44,54,77,94,140,141,152).

Por ejemplo suplementos con vitaminas A, D, B<sub>6</sub>, B<sub>12</sub>; y minerales: cloruro de sodio, monofosfato de calcio, óxido de magnesio, sulfato de potasio, sulfato de sodio, sulfato de cobre, yodo y sulfato de cobalto; no han proporcionado ni los efectos profilácticos ni terapéuticos esperados en bovinos alimentados con Senecio jacobaea (35,41,77).

También se han administrado dietas suplementarias con aminoácidos azufrados, como la cisteína o análogos de la metionina, como profilaxis a la intoxicación con APs, sobre la base de que los grupos sulfhidrilo (SH) de la cisteína se unen a los grupos electrofílicos de los pirroles, boqueando su efecto alquilante sobre las macromoléculas importantes como el ADN, ARN y las proteínas; además la cisteína es un precursor del glutatión, el cual está involucrado en la conjugación de los APs y sus pirroles. Los antioxidantes sintéticos como la etoxiquina y la hidroxianisola butilada, inducen un incremento en la actividad de la enzima glutatión-S-transferasa; la cual cataliza la conjugación con el glutatión (35,45,54,55,83,94,140).

Otro tratamiento consiste en la administración de ácidos orgánicos poco -

metabolizables: ácido mandélico, ácido hipúrico y ácido ascórbico; para disminuir el pH de la orina, favoreciendo la eliminación de los APs por vía renal - (141).

El molibdeno en la dieta aumenta la susceptibilidad de los ovinos a la intoxicación por los APs (152).

El fenobarbital ha mostrado ser un efectivo inductor de la función mixta-oxidasa, incluyendo la aminopirina N-dimetilasa en los ovinos; y causa incremento en la formación de pirroles a partir de los APs en ratas; aunque en ovinos no aumenta su susceptibilidad al Senecio jacobaea (143).

Salud Pública.

El envenenamiento por APs en el hombre ha ocurrido por contaminación de ca reales y por el uso de plantas tóxicas en la medicina tradicional (94,115).

Se han descrito casos de intoxicación por los APs en humanos en:

- a) Area del Caribe: Jamaica, República Dominicana, Barbados y Brasil.
- b) Egipto.
- c) La India.
- d) Europa (52,69).

La intoxicación por APs en el hombre puede presentarse como el Síndrome - de Budd-Chiari o Enfermedad Venoclusiva; el primero se caracteriza por: trom- bosis del tronco o grandes ramas de la vena hepática por alteraciones en el - proceso de la coagulación, severa distensión abdominal, hepatoesplenomegalia y ascitis; la última se caracteriza por ascitis y oclusión de la vena central y - sublobulillar hepática (9,26,52,59,69,94,112,116,117,134,137).

El cuadro clínico de la enfermedad venoclusiva se caracteriza por súbita distensión abdominal, náuseas, emésis, ascitis, hepatoesplenomegalia y edema - del tobillo; los niños de 18 meses a 3 años son los más afectados, pero los ca sos se presentan en individuos de 7 meses a 65 años (25,52,69,112,137).

Se ha observado que las dietas hipoproteicas potencializan o predisponen - a los efectos de la intoxicación por los APs (52).

Los APs son metabolizados y activados por los hepatocitos de la zona peri - venosa a pirroles, los cuales producen necrosis centrolobulillar, hemorragia - centrolobulillar, boqueo del flujo venoso o hipertensión portal, ascitis y he- patomegalia. El bloqueo temprano del flujo venoso puede ser producido por ne -

crisis centrolobulillar, hemorragia centrolobulillar, bloqueo del flujo venoso o hipertensión portal, ascitis y hepatomegalia. El bloqueo temprano del flujo venoso puede ser producido por necrosis centrolobulillar, bloqueo de la salida sinusoidal, necrosis del endotelio vascular central y aglutinación plaquetaria, por lo que la oclusión colagenosa de la vena representaría el intento de reparación del bloqueo temprano del flujo venoso (52,94).

Recientes estudios sobre la fisiopatología de la fibrosis hepática han demostrado una participación activa de las células de Kupffer (macrófagos) y los linfocitos como las células efectoras del sistema, produciendo los primeros fibronectina, factor activador de los fibroblastos, prostaglandinas y enzimas lisosomales (colagenasa y elastasa); y los segundos, substancia quimioatrayente de los fibroblastos y factor activador de los macrófagos. Las células blanco del sistema son el fibroblasto, el miofibroblasto y el hepatocito (118,119).

A la necropsia los órganos más afectados son: el hígado, el intestino grueso y la cavidad peritoneal (9,52,69,117,134). En el hígado se observa hepatomegalia, congestión pasiva crónica y trombosis de las venas hepáticas (9,52,69, - 116,134); en el intestino grueso se encuentra edema con nódulos en la mucosa y en la cavidad abdominal se observan las venas prominentes y platóricas (134).

En la histopatología se observa necrosis de la vena central y sublobulillar, los hepatocitos son substituidos por eritrocitos y células de Kupffer y los hepatocitos periféricos muestran degeneración grasa (9,59,117).

Por microscopía electrónica en los hepatocitos se observan gotas de grasa, figuras de mielina y citosomas, las mitocondrias aparecen agrandadas y con crestas cortas, la membrana celular se presenta alterada en la vecindad del espacio de Disse y secuestro citoplásmico y de organelos en el espacio de Disse (5).

Se ha logrado la reproducción experimental de la enfermedad venooclusiva en monos Macaca speciosa después de la administración oral de 1 gramo de monocrotalina (5).

Se han reportado casos de enfermedad venooclusiva en niños por la intoxicación con APs, al ingerir infusiones del "té de gordolobo" como tratamiento popular para la tos; se sabe que en realidad se trata del Senecio longilobus el cual tiene 4 APs: ridelina, retrorsina, senecionina y seneciofilina; y en general 3 mg de APs libres y 10.5 mg de N-óxidos por gramo de planta (132,137).

En México también se han reportado casos de enfermedad venooclusiva por la intoxicación de APs, tomando en cuenta la costumbre muy arraigada del pueblo para automedicarse con todo género de hierbas, cortezas, flores, raíces y tubérculos; la gran cantidad de especies de Senecio (150 a 200) y otras plantas que contienen APs en nuestro país, además de su ubicuidad y perenidad; ya que tan solo como flora urbana del Distrito Federal se han reportado 6 especies de Senecio: Senecio barbara-johannis, Senecio sessilifolius, Senecio praecox, Senecio salignus, Senecio stoechadiformis y Senecio vulgaris; podemos suponer que la intoxicación por los APs y sus manifestaciones clínicas de Enfermedad Venocclusiva y el Síndrome de Budd-Chiari son enfermedades iceberg en México (112,116).

### Control.

El control de las malezas de Senecio es casi imposible, por las características de floración de la planta y su adaptación a diferentes climas y suelos.

Sin embargo pueden ser controladas por varios métodos:

- a) Método Manual.- En pequeños pastizales y durante el proceso de henuficación- el mejor control puede ser manual, la cual debe realizarse antes de que inicie la floración o la maduración de los frutos, impidiendo la propagación de las semillas en otros terrenos (93,114).
- b) Método Biológico.- Se ha sugerido un pastoreo previo de los pastizales por - ovinos y caprinos, los cuales son aparentemente resistentes a los efectos tóxicos de los senecios, aunque en altas dosis por periodos prolongados de exposición pueden causarles daño hepático (93); en estos casos los ovinos y caprinos deberán ser suplementados con minerales (28). Esta medida no destruye la planta pero limita su extensión. El estado larvario de la polilla Cinabar se alimenta solo de las plantas del género Senecio, además de alimentarse - con ella concentra los APs en sus tejidos alterando la cadena lateral éster- durante su metabolismo; la cual utiliza como secreción defensiva (93,94); la polilla Cinabar fue importada de Europa y ha controlado la maleza, en área - donde ha sido liberada. El insecto Marquis coreidae, ataca al senecio produciendo grandes daños al presentarse en importantes cantidades en el período de vegetación activa de la planta (114).
- c) Método Químico.- Mediante programas de pulverización usando el herbicida - 2,4-D, es efectivo si se esparce sobre el estado de roseta en la planta o - durante el segundo año de crecimiento a fines de invierno o inicio de la -

c) Método Químico.- primavera, antes de que empiece la floración (50,93,157).

También se puede utilizar el herbicida Tordon 101 M al 1%, dando buenos resultados, seca las plantas y no vuelven a presentar rebrotes en otoño (114).

En la literatura consultada no se mencionan los posibles efectos perniciosos de los herbicidas 2,4-D y Tordon 101 M sobre los pastizales y las consecuencias toxicológicas de la ingestión de las plantas contaminadas sobre los animales (50,93,114,157).

**Objetivos.**

El género Senecio se encuentra ampliamente distribuido en nuestro país, re presentado por una gran cantidad de especies. Se ha visto que estas plantas son consumidas voluntaria o accidentalmente por el ganado e incluso se han utiliza do en la medicina herbolaria mexicana para diversos tratamientos (112).

En el presente trabajo se valora el posible efecto toxicológico y patológi co del Senecio salignus mediante un estudio químico y biológico basándose en - los siguientes objetivos:

- a) Determinar la posible presencia de alcaloides en el Senecio salignus utili zando los reactivos generales para alcaloides.
- b) En caso de ser positivas estas pruebas, se procedera a una separación de los alcaloides por medio de la técnica de cromatografía en papel.
- c) Determinar el posible efecto toxicológico del Senecio salignus en los siguien tes ensayos biológicos:
  - 1) Valorar el aspecto reproductivo en ratas hembras tratadas con Senecio sa - lignus durante diferentes períodos de tiempo.
  - 2) Determinar si hay algún efecto sobre los productos de ratas gestantes, su jetas a diversos períodos de tratamiento y en diferentes etapas de la ges tación.
  - 3) Valorar la susceptibilidad de especie entre ratas y cobayos.

**Materiales y Métodos.**

**Material:**

- Algodón
- Balanza analítica
- Balanza granataria
- Baño María
- Bomba de vacío
- Criba para molido fino
- Desecador
- Embudo
- Embudo de extracción: dos de 4 litros y uno de 2 litros
- Embudo de separación de 250 ml
- Estufa
- Matraces Erlenmeyer de 250 ml, 500 ml y 1000 ml
- Molino de pistones
- Papel filtro Whatman del no. 1 y del no. 3
- Perlas de ebullición
- Pesafiltros
- Pesas para balanza de 1, 5, 10, 50 y 100 g
- Pipetas terminales de 1, 5 y 10 ml
- Rotavapor
- Termómetro
- Vasos de precipitados de 50, 100, 500 y 1000 ml
- Vidrios de reloj

Substancias:

- Acido sulfúrico al 5%
- Agua destilada
- Amoniaco
- Reactivo de Boachardat
- Carbón vegetal activado
- Sulfato de sodio anhidro
- Zinc
- Cloroformo
- Reactivo de Dragendorff
- Glicerina
- Reactivo de Mayer
- Metanol
- Tiras reactivas para pH

Estudio Químico.

Obtención de extractos de Senecio salignus: Los rebrotes del Senecio salignus, se recolectaron en el área de Cuautitlán Izcalli en septiembre de 1982 y marzo de 1983 (época de floración); haciendo la separación de cada una de las partes de la planta. En el laboratorio se procedió a la deshidratación total y determinación de la humedad en cada una de las partes de la planta (cuadro 2), una vez molidas y tamizadas se hizo la extracción en frío con metanol (1/10), - después de un reposo de 48 horas y goteo del extracto metanólico (3 gotas por minuto); el extracto crudo resultante se filtró varias veces en papel Whatman No. 1 y se evaporó al vacío con un rotavapor a una temperatura de 32 a 34°C, obteniéndose el extracto metanólico crudo, el cual fue administrado a los animales en la parte experimental.

Obtención de los alcaloides\*: 25 ml del extracto metanólico crudo se añaden a 100 ml con agua destilada, se filtró y extrajo varias veces con cloroformo en un embudo de separación (1/10). Se realizó la separación del extracto metanólico acuoso y del extracto cloroformico, este último con una solución acuosa de ácido sulfúrico al 5% en varios pasos.

La solución acuosa ácida resultante se purifica con carbón activado al vapor durante 25 minutos agitando constantemente, una vez purificada la solución ácida se alcaliniza con amoníaco hasta un pH de 11.

Se vuelve a realizar la extracción pero ahora con la solución alcalina; separando la solución acuosa alcalina y el extracto cloroformico, este último se hizo pasar por un papel filtro con sulfato de sodio anhidro, se evaporó el cloroformo en baño María y se obtuvo finalmente el extracto total de alcaloides.

La identificación de los alcaloides se hizo por medio de los reactivos de Dragendorff ( $\text{Bi}(\text{NO}_3)_3 + 5\text{H}_2\text{O} + \text{HNO}_3$ ), Boachardat ( $\text{I}_2 + \text{KI} + \text{H}_2\text{O}$ ) y Mayer ( $\text{HgCl}_2 + \text{H}_2\text{O} + \text{KI}$ ): con la solución acuosa ácida y alcalina, resultando positiva la muestra a alcaloides (cuadro 3) en ambas soluciones.

Obtención de N-óxidos: La solución alcalina extraída en la preparación anterior se acidifica con ácido sulfúrico al 5%, se le agregó un exceso de zinc, se agitó por espacio de 30 minutos y se dejó reposar, se filtró y se hizo una nueva extracción clorofórmica, ésta se deshidrató con sulfato de sodio anhidro, se evaporó y se filtró obteniéndose los N-óxidos correspondientes a los alcaloides de la planta.

La identificación de los N-óxidos se hizo utilizando los reactivos generales de alcaloides: Dragendorff, Boachardat y Mayer; resultando positivas las reacciones (cuadro 4).

Reproducción experimental: A partir de la obtención del extracto metanólico de tallos y hojas mezclados, en donde se encuentran las fracciones alcaloides, se sometieron a un tratamiento con diferentes intervalos de tiempo 9 ratas hembras de diferente peso y 4 meses de edad; y 5 cobayos hembras de edad y peso diferentes (cuadro 5), con sus respectivos controles; 3 machos y 2 hembras. Los animales que se sometieron a tratamiento se observaron durante el período reproductivo, gestación y lactancia (cuadro 6).

El tratamiento diario fue por vía oral, a una dosis constante de 1.6 g de planta seca equivalente a 5 g de planta fresca; se hizo una mezcla de hojas (65%) y tallos (35%).

El tratamiento de Senecio salignus para ratas y cobayos se inició al mismo tiempo, administrando diariamente por vía oral una dosis total de 1 ml del-

extracto metanólico edulcorado con azúcar para aumentar su palatabilidad, el cual equivale a 1.6 g de planta seca.

La alimentación de todos los animales fue a base de un concentrado\*\* en forma de comprimidos, zanahorias y agua ad libitum.

A los 7 días después de iniciada la prueba, se procedió a el cruzamiento de las ratas controles y las tratadas con el macho control; las ratas tratadas que quedaron gestantes se sacrificaron 40 días después del parto con sus crías; en las ratas controles sólo se sacrificó una de sus crías al mes de la lactancia. El resto de los animales de experimentación (ratas y cobayos) se fueron sacrificando a diferentes tiempos, como se indica en el cuadro 7.

\* Se hizo la identificación de los alcaloides solo con el extracto metanólico de tallos y hojas, ya que estas partes son las que pueden consumir con mayor frecuencia los animales.

\*\* Concentrado: Proteínas mínimo 23%, Grasa mínimo 2.5%, Fibra máximo 6.0%, cenizas máximo 8.0%, Humedad máximo 12.0%, E.L.N. mínimo 48.5%, Ca máximo 1.0% y P mínimo 0.6%.

### Separación de los Alcaloides.

El método de estudio químico que hizo posible la separación de los alcaloides pirrolidínicos fue la cromatografía en papel.

La cromatografía en papel generalmente es una cromatografía de partición o de reparto, ya que la celulosa suele retener en su superficie una cantidad variable de agua que toma de la humedad atmosférica que oscila alrededor del 10% en peso. Por ello los disolventes para la cromatografía de reparto sobre papel deben prepararse por saturación de un disolvente o mezcla de disolventes con agua; a este respecto se utilizó n-butanol, que es algo miscible en agua y los cambios de polaridad y selectividad para las separaciones se logran añadiendo pequeñas cantidades de ácidos, en este caso se usó ácido acético.

Para lograr la separación se utilizó la cromatografía en papel por la técnica ascendente y la técnica descendente (102).

Preparación de los reactivos.- Solvente, eluyente de Partridge; se mezclan perfectamente en un embudo de separación los siguientes solventes:

- a) 400 ml de n-butanol.
- b) 10 ml de ácido acético (glacial).
- c) 500 ml de agua destilada.

La mezcla se deja separar en dos fases, la fase de abajo es la fase acuosa o fase fija, la que se usa para equilibrar y saturar el papel cromatograma. La fase sobrenadante que es la fase butanol del solvente de Partridge (saturada de ácido acético y agua) constituye la fase móvil; esta se deja reposar uno o dos días para que se separe completamente de la fase fija.

Preparación del cromatograma.- Técnica ascendente:

- a) Se corta una hoja de papel Whatman No 1 y No 3 de tamaño conveniente para las cámaras de cromatografía.
- b) Se depositan los extractos de alcaloides de tallos, hojas y frutos sobre una línea de 3 cm de la del límite del papel; cada mancha se separa una de la otra por dos o tres cm y está a su vez no fue mayor de 5 mm de  $\phi$  con varias aplicaciones sucesivas; entre una aplicación y otra en el mismo sitio se deja secar por exposición simple al aire o por medio de un secador de cabello.
- c) Se introduce en la cámara el papel cromatograma y se deja saturar con los vapores de la fase fija durante cuatro días.
- d) Se agrega la fase móvil después de este tiempo, de tal forma que no toque la línea de muestreo.
- e) Se procede a cerrar la cámara perfectamente, se deja correr el eluyente, aproximadamente el 90% del resto del papel.
- f) Una vez que corrió la muestra se seca el papel y se marca la distancia que recorrió el solvente.
- g) Se deja secar en un lugar apropiado.

Preparación del cromatograma: Técnica descendente:

- a) En esta técnica el papel se prepara de la misma forma.
- b) En un recipiente se coloca la fase fija en el fondo de la cámara, durante 4 días\*.
- c) El disolvente se coloca en un depósito de vidrio localizado en la parte superior de la cámara.
- d) El papel se dobla y se fija con una varilla sobre el recipiente con el disolvente, sin que el papel llegue al fondo de la cámara de cromatografía.

- e) Se deja avanzar la fase móvil (hacia abajo) sobre el papel hasta el 90% de este.
- f) Una vez que corre la muestra se saca el papel y se marca la distancia que recorrió la fase móvil.
- g) El papel se deja secar en un lugar apropiado.

#### Revelado de la Cromatografía.

Preparación del revelador de Dragendorff.- Solución A (Reactivo de Dragendorff): 2.125 g de subnitrito de bismuto

25.0 ml de ácido acético

Aforar a 100 ml con agua destilada.

Solución B: 50 g de yoduro de potasio

125 ml de agua destilada

Preparación del reactivo: Mezclar 10 ml de la solución A con 10 ml de la solución B, añadir 20 ml de ácido acético y 100 ml de agua destilada y se filtra la solución obtenida.

La identificación de la separación de los alcaloides se hace por medio de un rociado fino repetido del revelador de Dragendorff sobre la cromatografía en una campana de extracción. Se deja secar el revelador y se marcan las manchas obtenidas sobre el papel para obtener el Rf.

La distancia que recorre una sustancia es particularmente importante, ya que medida adecuadamente en función de la distancia que recorrió el disolvente durante la cromatografía, proporciona una constante llamada Rf.

El Rf (Factor de Retención) es la relación entre la distancia que recorre el extracto sobre el papel con respecto a la distancia que recorre el solvente

(fase móvil) o sea:

$$R_f = \frac{\text{Distancia recorrida por la muestra (del origen al sitio en que quedo)}}{\text{Distancia recorrida por el disolvente (del origen al frente del disolvente)}}$$

Ambas medidas deben hacerse en centímetros o mililitros.

\*La fase fija se deja en la cámara 4 días previos a la cromatografía para asegurar que la atmósfera de la cámara este perfectamente saturada de vapor con lo que se evita que la composición de la mezcla de disolventes varíe por evaporación parcial al irse desarrollando el proceso cromatográfico.

Resultados.

Estudio Químico.- Mediante las extracciones metanólicas del Senecio salignus, se procedió a la detección de alcaloides utilizando los reactivos de Boichardat, Mayer y Dragendorff en solución acuosa ácida y solución alcalina, obteniéndose resultados positivos, tal como se indica en los cuadros siguientes:

Cuadro 2.- Humedad (%) de las partes del Senecio salignus.

Muestra	Fecha de recolección	peso (g) inicial	peso (g) materia seca	% humedad	% materia seca
Flor	03-111-83	5.0	1.525	69.50	30.50
Fruto	23-IX -82	4.97	1.6298	67.21	32.79
Hojas	23-IX -82	4.99	1.3682	72.58	27.42
Raíz	03-111-83	5.0	1.3274	73.45	26.55
Tallo	23-IX -82	4.61	1.6325	64.59	35.41

Cuadro 3.- Identificación de los alcaloides.

Solución	Reactivos		
	Boichardat	Mayer	Dragendorff
Acuosa ácida	-	+	-
		débil precipitado blanco	
Acuosa alcalina	+	+	+
	precipitado amarillo	precipitado blanco	precipitado anaranjado, coloración café en la periferia

Cuadro 4.- Identificación de N-óxidos.

Solución	Reactivos		
	Boichardat	Mayer	Dragendorff
Acuosa ácida	+	+	-
	precipitado amarillo	precipitado blanco	precipitado rojo oscuro o café

Cuadro 5.- Pesos (g) de las ratas y cobayos.

Animales	Identificación	Peso inicial (g)
<b>Ratas Tratadas</b>		
1	B s/m	207.6
2	B (mpd)	232.0
3	B 1(0) D(3)	242.0
4	B 1(6) D(6)	182.0
5	N 1(6) D(6)	183.0
6	N s/m	253.0
7	N s/m L3	247.0
8	N 1(9) D(2)	198.0
9	N 1(1) D(2)	194.0
<b>Ratas Control</b>		
10	N 1(18) D(1)	242.0
11	N 1(02) D(3)	221.5
12	N s/m L1	254.0
13	N 1(09) D(9)	190.0
14	N s/m L2	231.0
15	B macho	251.0
<b>Cobayos Tratados</b>		
1	C (1) N-H	330.0
2	C (1) NB-H	380.0
3	C (2) ACB-H	356.8
4	C (3) CB-H	434.7
5	C (4) AN-H	371.1
6	C (5) CBB-H	462.4
<b>Cobayos Control</b>		
7	C (a)-H	396.0
8	C (b)-H	613.5
9	C (c)-H	418.0
10	C (d)-H	510.0
11	C (e)-H	362.0

Cuadro 6.- Apareamientos y Nacimientos de Ratas Tratadas y no Tratadas.

Ratas	Inicio Tratamiento	1a. Monta	Parto	2a. Monta	Parto	3a. Monta	Parto
<b>Tratadas</b>							
1	240184	310184	-----	060284	-----	020384	-----
2	240184	310184	-----	060284	-----	020384	-----
3	240184	310184	-----	060284	270284	-----	-----
					(2 vivos)		
4	240184	310184	-----	060284	-----	-----	-----
5	240184	060284	280284	020384	-----	-----	-----
			(2 vivos que mueren 2 hrs. después)				
6	240184	060284	-----	150284	-----	020384	-----
7	240184	060284	-----	150284	-----	-----	-----
8	240184	060284	-----	150284	-----	-----	-----
9	240184	060284	-----	150284	-----	-----	-----
<b>Controles</b>							
10	-----	150284	-----	010384	-----	-----	-----
11	-----	150284	-----	010384	-----	-----	-----
12	-----	150284	-----	010384	140384	-----	-----
					(5 vivos)		
13	-----	150284	-----	010384	230384	-----	-----
					(2 vivos, muertos por canibalismo)		
14	-----	150284	-----	010384	210384	-----	-----
					(4 vivos)		

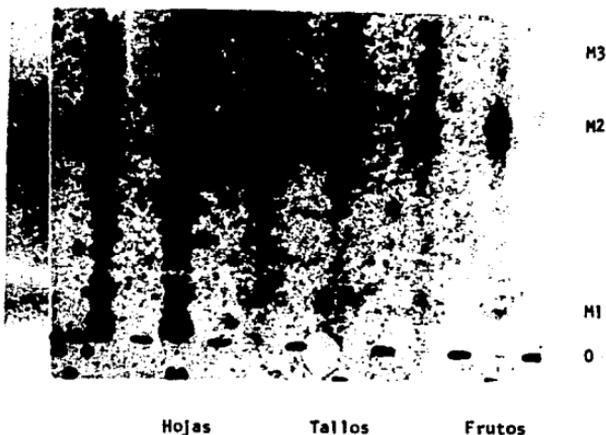
Cuadro 7.- Duración de los Tratamientos con el Extracto de Senecio salignus en ratas y cobayos.

Animales	Inicio Tratamiento	Fecha Sacrificio	Duración Tratamiento	Observaciones
<b>Ratas Tratadas</b>				
1	240184	130484	80 días	-----
2	240184	130484	80 días	-----
3	240184	130484	80 días	Se sacrificó con sus 2 crías de 46 días
4	240184	100284	17 días	-----
5	240184	130484	80 días	-----
6	240184	130484	80 días	-----
7	240184	240284	31 días	-----
8	240184	240284	31 días	-----
9	240184	240284	31 días	-----
<b>Ratas Control</b>				
10	-----	130484	-----	-----
11	-----	130484	-----	-----
12	-----	130484	-----	Se sacrificó solo 1 cría
13	-----	130484	-----	-----
14	-----	130484	-----	Se sacrificó solo 1 cría
<b>Cobayos Tratados</b>				
1	240184	240284	31 días	presentó traumas
2	240184	280284	35 días	sangrado vaginal
3	240184	020384	38 días	-----
4	240184	020384	38 días	-----
5	240184	020384	38 días	-----
6	240184	020384	38 días	-----
<b>Cobayos Control</b>				
7	-----	020384	-----	-----
8	-----	020384	-----	-----
9	-----	020384	-----	-----
10	-----	020384	-----	-----
11	-----	020384	-----	-----

Cuadro 8.- Valores de Rf de los Alcaloides del Senecio salignus.

<u>Manchas</u>	<u>Hojas</u>	<u>Tallos</u>	<u>Frutos</u>
1	0.15	0.12	0.14
2	0.56	0.61	0.58
3	0.81	0.83	0.83

Separación de los Alcaloides.- Al revelar el cromatograma se observaron diferentes distancias recorridas por los extractos del Senecio salignus sobre el papel en las fracciones de hojas, tallos y frutos (fotografía No 2).



Fotografía No 2.- Cromatograma que evidencia la separación cromatográfica de 3 diferentes Alcaloides en: hojas, tallos y frutos del Senecio salignus (0:Origen, M1:Mancha 1, M2:-Mancha 2 y M3:Mancha 3).

Estudio biológico.- En las ratas tratadas se observaron clínicamente zonas de alopecia areata con prurito, en la cara y en los costados; además diarrea y polidipsia recurrente durante todo el periodo de tratamiento y observación.

El 22.22% (2/9) de las hembras tratadas quedó cargada, en comparación con las ratas controles que el 75% (3/4) parieron; la rata control que no parió, en el examen posmortem presentó alteraciones en el aparato reproductor, observándose se la presencia de quistes foliculares en el ovario izquierdo.

En los productos de las ratas tratadas no se observaron lesiones macroscópicas ni microscópicas sugestivas de intoxicación por los APs.

En las ratas y cobayos tratados la principal lesión a la necropsia fue una enteritis hemorrágica; además tanto las ratas controles y tratadas presentaron hidrosálpinx.

Los órganos estudiados histopatológicamente por su susceptibilidad a la intoxicación por los APs fueron: hígado, riñón, pulmón y encéfalo (50,81,84,131).

La lesión histopatológica más frecuente en el riñón de ratas tratadas fue: necrosis de las células epiteliales de los túbulos contorneados proximales; la media del diámetro promedio del núcleo de las células epiteliales renales fue de 7.46 micras en comparación con 7.06 micras de diámetro promedio de las células epiteliales renales de las ratas control (cuadro 9).

El hígado de las ratas tratadas presentó la siguiente gama de lesiones microscópicas características de la intoxicación por los APs: carinomegalia, poliploidia, hepatomegalocitosis, masas basófilas en citoplasma, necrosis y proliferación de conductos biliares (fotografía No 3).

En el pulmón la única alteración histopatológica que se observó fue la proliferación linfocitaria peribronquial y congestión; la cual podría asociarse con

los cambios vasculares producidos por los APs del tipo de la monocrotalina (68).

En el encéfalo la única alteración que se observó fue la presencia de núcleos vacuolados y la satellitosis.

Cobayos: En el riñón de los cobayos no se encontraron lesiones histopatológicas características de la intoxicación por los APs; el diámetro promedio de los núcleos de las células epiteliales renales fue de 7.135 micras comparado con las 7.53 micras de diámetro promedio de los controles; no habiendo diferencia estadísticamente significativa (cuadro 9).

En el cuadro No 9 se muestran los diámetros promedio de los hepatocitos y las células epiteliales renales de las ratas y cobayos; tanto tratados como controles. Observándose claramente que los cobayos son más resistentes a la intoxicación de APs que las ratas; además el órgano más afectado, como cita la literatura (94) y en concordancia con la actividad alquilante y metabolismo de los APs, es el hígado; observándose diferencia estadísticamente significativa en el diámetro promedio de los hepatocitos de las ratas tratadas y controles.

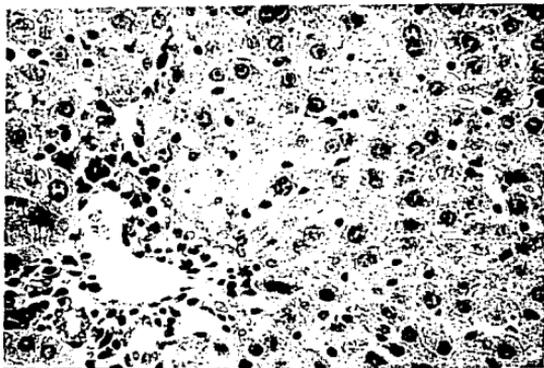
En la fotografía 4 se puede comparar el aspecto y tamaño de los hepatocitos y sus núcleos; tanto en ratas tratadas como ratas controles.

Cuadro 9.- Resultados de la medición micrométrica de los núcleos de los hepatocitos y células epiteliales renales\* (micras).

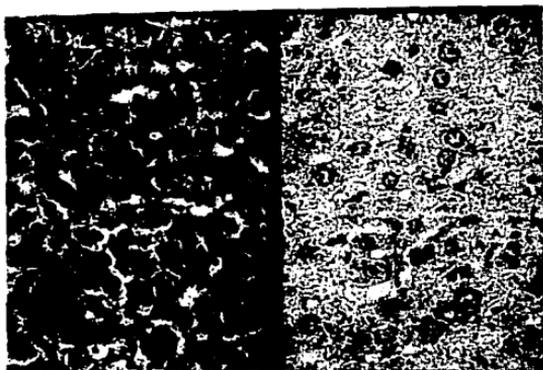
Animales	Hepatocitos #	Células renales #
Ratas control	8.44 <sup>***</sup>	7.06
Ratas tratadas	11.035 <sup>***</sup>	7.46
Cobayos control	8.35	7.53
Cobayos tratados	8.44	7.135

\*La medición se hizo al azar de 40 núcleos, el resultado es la media de la suso. dicha medición.

\*\*Diferencia estadísticamente significativa con la prueba t de student ( $p < 0.05$ ) (32).



Fotografía No 3.- Corte Histopatológico de una rata tratada, en el que se observa: proliferación de conductos biliares; - cariomegalia, poliploidía y degeneración albuminosa de los hepatocitos. (400X-HE).



Fotografía No 4.- Comparación Histopatológica hepática de - una rata control (derecha) y una tratada (izquierda); en la segunda se observa: megalocitosis, cariomegalia, poliploidía y degeneración albuminosa de los hepatocitos (400X-HE).

## Discusión.

De acuerdo con los resultados de la prueba cualitativa (cuadro 3) del estudio químico, se observa que la mayor cantidad de los APs se encuentran en la solución acuosa alcalina del extracto metanólico; la cual dió reacción positiva con los reactivos de Boachardat, Mayer y Dragendorff.

En la solución acuosa ácida se detectó cualitativamente la presencia de N-óxidos por la formación de precipitados con los mismos reactivos; los cuales como cita la literatura (90,94) son menos amargos, más hidrosolubles y hacen más palatables a las plantas que contienen APs; además por deshidratación son convertidos a los metabolitos activos, los pirroles.

Se ha reportado que los APs tóxicos tienen cadenas ramificadas ácidas (90, 127); por lo que es probable que por tal motivo se haya detectado su presencia en la solución acuosa alcalina con los reactivos generales de alcaloides.

Por los resultados obtenidos en la separación de los APs por cromatografía en papel mediante las técnicas ascendente y descendente, se infiere que tanto en los tallos, hojas y flores del Senecio salignus se encuentran los 3 alcaloides, los cuales se sugiere que son los mismos por tener semejante comportamiento en el cromatograma y el mismo valor de Rf (cuadro 8).

De acuerdo con los resultados obtenidos en los ensayos biológicos se puede postular que los alcaloides encontrados en el Senecio salignus son Alcaloides Pirrolicidínicos.

Las ratas tratadas presentaron diarrea y polidipsia recurrentes, las cuales se asociaron a la necropsia con la presencia de enteritis hemorrágica; lo cual sugiere como reporta la literatura (38,39,44); cierto efecto sobre la mu-

cosa intestinal durante la absorción de los APs. También se observaron en las ratas tratadas zonas de alopecia, las cuales se producían en los animales como consecuencia del efecto irritativo y el prurito que les provocaba el escurrimiento del tratamiento administrado por vía oral del extracto del Senecio salignus, el cual tenía una consistencia viscosa.

A la necropsia una rata tratada (No 2) y las 2 ratas controles que no quedaron gestantes (No 10 y 11) presentaron hidrosálpinx; lo que probablemente fue la causa de la infertilidad; además de la presencia de quistes foliculares, lo cual no se puede asociar al tratamiento con el extracto de Senecio salignus.

Las lesiones histopatológicas más consistentes y características de la intoxicación por APs, se encontraron en las ratas tratadas; y no en los cobayos que recibieron el mismo tratamiento; por lo que se puede sugerir que las ratas como especie son más susceptibles a los APs del Senecio salignus que los cobayos; lo cual concuerda con lo reportado en la literatura (19,116); ya que los cobayos carecen de enzimas microsomales hepáticas para metabolizar y activar los APs a sus metabolitos activos, los pirroles; los cuales por su actividad alquilante son los verdaderos responsables de los efectos toxicológicos y patológicos de los APs.

El hígado fue el órgano que presentó las lesiones características de la intoxicación por los APs, como son: carionmegalia, poliploidia, hepatomegalocitosis, necrosis y proliferación de los conductos biliares (fotografías 3 y 4); dichas lesiones son concordantes con el metabolismo y actividad de los APs y sus pirroles; los cuales son formados por acción de las enzimas: monooxigenasa y citocromo P-450 principalmente (131,140). Cuando se presentan estas lesiones histopatológicamente en el hígado es necesario establecer un diagnóstico toxicoló-

gico diferencial con la aflatoxicosis; enfermedad producida por las aflatoxinas: B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub> y G<sub>2</sub>; las cuales son producidas por los hongos Aspergillus flavus y Aspergillus parasiticus; dichas aflatoxinas son los carcinógenos químicos más potentes que se conocen y como los APs requieren de cierto metabolismo por las enzimas microsomiales hepáticas para adquirir su capacidad alquilante - (15,91,95,122,155).

Los órganos restantes estudiado (pulmón, encéfalo y riñón) en general no presentaron lesiones sugestivas de intoxicación por los APs como serían: cambios vasculares en pulmón, como los producidos por monocrotalina (22,23); las células de Alzheimer tipo II asociadas a la degeneración esponjosa como consecuencia de la hiperamonemia en encéfalo (50,66,80,83,144); y megalocitosis y mesangiólisis de las células epiteliales en riñón (5,6,36,48,68,84).

Probablemente las lesiones solo se limitaron al hígado, al ser este el órgano de metabolismo y biotransformación de los APs a pirroles, actuando estos directamente como agentes alquilantes sobre los hepatocitos; no pudiendo actuar los pirroles sobre otros órganos de la economía.

La ausencia de lesiones en las crías de las ratas tratadas hace pensar - que los APs y/o sus pirroles no atraviesan la placenta ni se transmiten por medio de la leche, en el caso del Senecio galiginus estudiado; sin olvidar el bajo número de crías estudiado y el período de tratamiento; ya que en la literatura se ha reportado que los APs y sus metabolitos sí atraviesan la placenta y pueden ser transmitidos por medio de la leche (11,42,43,48,56,75,78,129).

Tampoco se observó ningún efecto sobre el comportamiento reproductivo de las ratas, no obstante que el porcentaje de fertilidad de las ratas controles (75%) fue mayor en comparación con el de las ratas tratadas (22%); ya que en -

la necropsia la rata tratada y 2 controles presentaron hidrosálpinx y quistes foliculares de etiología desconocida.

Una de las ratas tratadas presentó un aborto, el cual al examen histopatológico mostraba restos de sincitiotrofoblasto.

La presencia de 3 APs en el tallo, hojas, flores y/o frutos del Senecio salignus reviste mucha importancia para la Salud Pública; ya que nuestro pueblo - como en general toda Latinoamérica, por costumbres, raíces ancestrales y etnográficas es muy afecto a utilizar la medicina herbolaria; en la cual se han reportado gran cantidad de Senecios y entre ellos el Senecio salignus como terapia para diversos padecimientos (112). Además el consumo de la planta por los bovinos lecheros, con la probable eliminación de los APs o sus pirroles en la leche; y hasta el consumo de miel elaborada con el néctar de las flores del Senecio (11, 40, 42, 43, 48, 75, 129) pueden repercutir directamente en la Salud Pública.

Como corolario de este Estudio Toxicológico y Patológico de la "Jarilla" - (Senecio salignus); se exhorta a continuar con esta línea de investigación, ya sea para identificar y purificar los APs del Senecio salignus, así como determinar sus actividades sobre modelos in vitro; también estudiar la gran variedad de Senecios y otros géneros de plantas que contienen APs que existen en nuestro país y su posible repercusión en la ganadería y Salud Pública Nacional.

Conclusiones.

Las conclusiones a las que llegamos bajo las restricciones del diseño y modelo experimental son:

- 1).- El Senecio salignus contiene 3 alcaloides, presentes en los extractos metanólicos de tallos, hojas, flores y/o frutos; los cuales de acuerdo con el ensayo biológico parecen corresponder a Alcaloides Pirrolidínicos.
- 2).- Por las alteraciones reproductivas presentes en las ratas tratadas y controles no se puede concluir que el extracto metanólico del Senecio salignus tenga algún efecto directo sobre su comportamiento reproductivo.
- 3).- No se observó ningún efecto sobre los productos de ratas gestantes y lactando tratadas con el extracto metanólico del Senecio salignus.
- 4).- El órgano que presentó lesiones características de intoxicación por los APs fue el hígado, de acuerdo con lo que reporta la literatura.
- 5).- Se encontró que sí existe diferencia en la susceptibilidad al extracto metanólico entre ratas y cobayos; siendo las ratas susceptibles y los cobayos resistentes. Por lo que las ratas parecen ser el modelo más adecuado para ensayos biológicos en el laboratorio.

Apéndice 1.

Lista de Senecios citados en la Bibliografía.

1) México:

- 1) Senecio albo-lutescens Sch. Bip.
- 2) Senecio ampliofolius D.C.
- 3) Senecio andrieuxii D.C.
- 4) Senecio angulifolius D.C.
- 5) Senecio argutus H.B.K.
- 6) Senecio barbara-lohannis D.C.
- 7) Senecio bellidifolius H.B.K.
- 8) Senecio bracteatus Klatt
- 9) Senecio canicida
- 10) Senecio cervarifolius
- 11) Senecio cineraria
- 12) Senecio coloratus H.B.K.
- 13) Senecio cordifolius
- 14) Senecio decompositum
- 15) Senecio flacidus
- 16) Senecio fides
- 17) Senecio longilobus
- 18) Senecio multidentatus
- 19) Senecio myriocephalus
- 20) Senecio platanifolius Benth
- 21) Senecio praecox D.C.
- 22) Senecio prenanthoides
- 23) Senecio procumbens H.B.K.
- 24) Senecio purpurascens
- 25) Senecio reticulatus
- 26) Senecio roldana
- 27) Senecio salignus
- 28) Senecio sanguisorbae
- 29) Senecio schimperii
- 30) Senecio schultzei
- 31) Senecio sessilifolius
- 32) Senecio sinuatus H.B.R.
- 33) Senecio spartioides
- 34) Senecio stoechadiformis D.C.
- 35) Senecio tolucanus D.C.
- 36) Senecio vulgaris
- 37) Senecio vulneraria D.C.

Apéndice II.

Lista de Senecios citados en la Bibliografía.

2) Otros Países:

- 1) Senecio aquaticus
- 2) Senecio aureus L.
- 3) Senecio brasiliensis var. tripartitus
- 4) Senecio burchellii
- 5) Senecio canicida
- 6) Senecio cineraria
- 7) Senecio cordifolius
- 8) Senecio cunninghamii
- 9) Senecio dicifolius
- 10) Senecio doria
- 11) Senecio douglasii var. longilobus
- 12) Senecio flaccidus
- 13) Senecio fuchsii
- 14) Senecio glabellus
- 15) Senecio grisebachii-bak
- 16) Senecio ilicifolius
- 17) Senecio incognitus
- 18) Senecio isatidius
- 19) Senecio jacobaea
- 20) Senecio laevis
- 21) Senecio latifolius
- 22) Senecio longilobus
- 23) Senecio magnificus
- 24) Senecio mikanoides
- 25) Senecio nudicaulis
- 26) Senecio quadridentatus
- 27) Senecio quadridentatus
- 28) Senecio reclinator
- 29) Senecio retrorsus
- 30) Senecio rudbeckiaefolius
- 31) Senecio sanguisorbae
- 32) Senecio scleratus
- 33) Senecio silvaticus
- 34) Senecio spartioides
- 35) Senecio squalidus

Apéndice 111

Otros géneros y especies de plantas que contienen Alcaloides Pirrolidínicos citados en la literatura consultada:

- 1) Género Amsinckia
  - a) Amsinckia intermedia
- 2) Género Cacalia
  - a) Cacalia cardifolia
  - b) Cacalia decomposita
- 3) Género Crotalaria
  - a) Crotalaria aridicola
  - b) Crotalaria crispata
  - c) Crotalaria dura
  - d) Crotalaria fulva
  - e) Crotalaria globifera
  - f) Crotalaria goreensis
  - g) Crotalaria laburnifolia
  - h) Crotalaria mucronata
  - i) Crotalaria recta
  - j) Crotalaria retusa
  - k) Crotalaria sagittalis
  - l) Crotalaria spectabilis
  - ll) Crotalaria trifolialestrum
- 4) Género Cynoglossum
  - a) Cynoglossum caeruleum
  - b) Cynoglossum geometricum
  - c) Cynoglossum officinale
- 5) Género Echium
  - a) Echium lycopsis
  - b) Echium plantagineum
- 6) Género Erechtites
  - a) Erechtites spp
- 7) Género Heliotropium
  - a) Heliotropium europaeum
  - b) Heliotropium cinerascens
  - c) Heliotropium lasiocarpum
  - d) Heliotropium parviflorum
  - e) Heliotropium peruvianum
- 8) Género Lolium
  - a) Lolium conestum
- 9) Género Thelepogon
  - a) Thelepogon elegans
- 10) Género Thesium
  - a) Thesium minoritzianum
- 11) Género Trichodesma
  - a) Trichodesma incanum

Apéndice IV.

Alcaloides Pirrolidínicos encontrados en algunos géneros de plantas.

- 1) 7-Angelhellotridina
- 2) Cartamoidina
- 3) Clivorina
- 4) Fluvina
- 5) Heliotrina
- 6) Hieracifolina
- 7) Isatidina
- 8) Jacobina
- 9) Jacodina
- 10) Jacolina
- 11) Jaconina
- 12) Jacozina
- 13) Lasiocarpina
- 14) Lolina
- 15) Monocrotalina
- 16) Necinas (aminoalcoholes)
- 17) Pentasitenina
- 18) Platyphillina
- 19) Pterophina
- 20) Retronecina
- 21) Retrorsina
- 22) Ridelina
- 23) Rosenarinina
- 24) Senecifilina
- 25) Seneciofilina
- 26) Seneciofolidina
- 27) Senecionina
- 28) Senkirkina
- 29) Supinina
- 30) Telepogina
- 31) Tesina

Apéndice V.

Plantas que contienen Alcaloides Pirrolizidínicos utilizadas en la medicina popular en México (112,115,156).

Nombre científico	Nombre vulgar	Usos
<u>Cacalia cardifolia</u>	"Peyote de Xochimilco"	Oral: antipirético y antidiarreico
<u>Cacalia decomposita</u>	"Materique" "Peyote"	Local: analgésico
<u>Cynoglossum officinale</u>	"Lengua de perro"	Narcótico y sedante
<u>Heliotropium indicum</u>	"Alacrancillo", "Bigotito" "Lengua de sapo", "Rabo de mico"	Antitusígeno y antiásmático
<u>Heliotropium parviflorum</u>	"Heliotropo"	Local: astringente Sistémico: febrífugo
<u>Heliotropium peruvianum</u>	-----	Local: astringente Sistémico: febrífugo
<u>Senecio canicida</u>	"Hierba de la Puebla" "Itzcuimpantli"	Local: acaricida Oral: diaforético
<u>Senecio cervicalifolius</u>	"Peyote"	Local: analgésico
<u>Senecio praecox</u>	"Palo loco", "Paño bobo"	Local: analgésico
<u>Senecio purpurascens</u>	-----	Local: acaricida Oral: diaforético
<u>Senecio tolucanus</u>	"Niños del monte", "Raba-	Neurotóxico (brujería)
<u>Senecio vulneraria</u>	"Calancapatli", "Lechuguilla"	Oral: oxiótico

**Bibliografía.**

- 001.- Acland, H.H.; Mann, P.C.; Robertson, J.L.; Divers, T.J.; Lichensteiger, C. A.; Whitlock, R.H. Toxic hepatopathy in neonatal foals. *Vet. Pathol.* 21: 3-9, 1984.
- 002.- Afzelius, B.A.; Schoental, R. The ultrastructure of the enlarged hepatocytes induced in rats with a single oral dose of retrorsine, a pyrrolizidine (Senecio) alkaloid. *J. Ultrastructure Research* 20, 328-345, 1967.
- 003.- Aguilar, C.A. *Plantas Tóxicas de México*. Ed. Publicaciones del IMSS; La Fuente Impresores, S.A. 1a. edición, pp. 271, 1982.
- 004.- Alcantara, D.D. y Santos, U.L. La reparación del ADN y la inducción de mutaciones. *Ciencia y Desarrollo* No 59, Nov-Dic, pp. 53-62, 1984.
- 005.- Allen, J.R.; Carstens, L.A. and Olson, B.E. Venous-occlusive disease in Maca ca speciosa monkeys. *Am. J. Pathol.* 50(4) 653-659, 1967.
- 006.- Allen, J.R.; Carstens, L.A.; Norback, D.H. and Loh, P.H. Ultrastructural and biochemical changes associated with pyrrolizidine induced hepatic megakaryocytosis. *Cancer Research* 30, 1857-1866, June 1970.
- 007.- Allen, J.R. and Hsu, I.C. Antimitotic effects of dehydroretronecine pyrrolizidine (38384). *Proc. of the Society for Experimental Biology and Medicine*, 147, 546-550, 1974.
- 008.- Allen, J.R.; Hsu, I.C. and Carstens, L.A. Dehydroretronecine-induced rhabdomyosarcomas in rats. *Cancer Research* 35, 997-1002, April 1975.
- 009.- Anderson, W.A.D. *Pathology* vol 2. Copyright C.V. Mosby Company Sixth Ed. - 1971, printed USA.
- 010.- Araya, O.; Hernández, J.R.; Espinoza, A.E. and Cubillos, V. Serum changes-

- 010.- and histologic liver lesions due to experimental ingestion of ragwort -  
(Senecio erraticus) in sheep. Vet. Hum. Toxicol. 25, 1 Feb. 1983.
- 011.- Bhattacharyya, K. Foetal and neonatal responses to hepatotoxic agents. J.  
Path. Bact. 90(1), 151-161; 1965.
- 012.- Bishop, J.M. Oncogenes. Scientific American, 246(3), march 1982.
- 013.- Blain, C.J. Accidents Consécutifs a l'ingestion de plantes sauvages. Rec.  
Méd. Vét. 154(2), 109-117, 1978.
- 014.- Blanco, M. Reparación del Material Genético. Investigación y Ciencia No -  
40, enero 1980.
- 015.- Blood, D.C. and Henderson, J.A. Medicina Veterinaria. Ed. Interamericana-  
5a. ed. 1071-1074; 1982.
- 016.- Bowes, N.D. Intoxicación por Senecio. Rev. Agronomía y Vet. 1(7), 22-24,-  
1972.
- 017.- Brodt, P. Tumor Immunology-Three Decades in Review. Ann. Rev. Microbiol.-  
37: 447-476, 1983.
- 018.- Buckmaster, G.W.; Cheeke, P.R. and Shull, L.R. Pyrrolizidine alkaloid poi-  
soning in rats: Protective effects of dietary cysteine. J. of Animal Scien-  
ce 43(2), 1976.
- 019.- Buckmaster, G.W.; Cheeke, P.R.; Arscott, G.H.; Dickinson, E.O.; Pierson,-  
M.L. and Shull, L.R. Response of Japanese quail to dietary and injected -  
pyrrolizidine (Senecio) alkaloid. Journal of Animal Science 45(6), 1977.
- 020.- Bull, L.B. The histological evidence of liver damage from pyrrolizidine -  
alkaloids: Megalocytosis of the liver cells and inclusion globules. Aus-  
tralian Veterinary Journal, 31(2), 33-40, 1955.
- 021.- Bull, L.B. and Dick, A.T. The chronic pathological effects on the liver -

- 021.- of the rat of the pyrrolizidine alkaloids heliotrine, lasiocarpine and their N-oxides. J. Path. Bact. 78: 483-502, 1959.
- 022.- Burns, J. The heart and pulmonary arteries in rats fed on Senecio jacobaea. J. Pathol. 106(3) 187-194, 1972.
- 023.- Butler, W.H.; Mattocks, A.R. and Barnes, J.M. Lesions in the liver and lungs of rats given pyrrole derivatives of pyrrolizidine alkaloids. J. Pathol. 100: 169-175, 1970.
- 024.- Cabrera, A.L. and Ré, R.R. Sobre un senecio adventicio en la provincia de Buenos Aires. Rev. Facultad Agr. (3a. época), t. XLI (1a. entrega, La Plata; 43-50, 1965.
- 025.- Cagle, P. And Langston, C. Pulmonary Veno-occlusive disease as a cause of sudden infant death. Arch. Pathol. Lab. Med. 108(4), 338-340, 1984.
- 026.- Carlson, R.A.; Arya, S. and Gilbert, E.F. Budd-Chiari Syndrome presenting as sudden infant death. Arch. Pathol. Lab. Med. 109(4), 379-380, 1985.
- 027.- Clarke, E.G.; Clarke, M.L. Veterinary Toxicology. Baillière Tindall London 285-293, 1978.
- 028.- Cockburn, R.S.; Eaton, G.; Hudson, J.R.; Morgan, K.G.; Wood, E.C. and Worden, A.N. Acute poisoning of cattle by common ragwort (Senecio jacobaea). Vet. Rec. 67(34), 1955.
- 029.- Connor, H.E. The poisonous plants in New Zealand. Edit. in the Science Information Division, DDIR Second revised edition, 44-53, 1977.
- 030.- Cook, L.H. and Holt, A.C.E. Mutagenic activity in *Drosophila* of two pyrrolizidine alkaloids. Journal of Genetic 59: 273-274, 1966.
- 031.- Croce, M.C. y Kropowski, H. La genética del cáncer humano. Investigación y Ciencia No 19, abril 1978.

- 032.- Culvenor, C.C.J.; Dann, A.T. and Dick, A.T. Alkylation as the mechanism by which the hepatotoxic pyrrolizidine alkaloids act on cell nuclei. *Nature* 195(4841), 570-573; 1962.
- 033.- Culvenor, C.C.J.; Downing, D.T. and Edgar, J.A. Pyrrolizidine alkaloids as alkylating and antimetabolic agents. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 163: 843-847, 1969.
- 034.- Culvenor, C.C.J. Prevention of pyrrolizidine alkaloid poisoning animal - adaptation or plant control. Effect of poisonous plants on livestock, - Edit. by Academic Press, 1978.
- 035.- Cheeke, P.R.; Schmitz, J.A.; Lassen, E.D. and Pearson, E.G. Effects of dietary supplementation with ethoxyquin, magnesium oxide, methionine hydroxy analog, and B vitamins on tansy ragwort (Senecio jacobaea) toxicosis in beef cattle. *Am. J. Vet. Res.* 46(10), 1985.
- 036.- Chesney, Ch.F. and Allen, J.R. Resistance of the Guinea pig to pyrrolizidine alkaloid intoxication. *Toxicol. and Applied Pharmacol.* 26, 385-392, 1973.
- 037.- Christie, G.S.; Le Page, R.N. and Baillie, M.J. Pyridine nucleotide metabolism in hellotrine poisoning. *Nature* 189, 593-594; 1961.
- 038.- Daniel, E.W. *Biostatística. Base para el análisis de las ciencias de la salud.* Ed. Limusa; Tercera reimpresión 1982; 132-140.
- 039.- Dean, R.E. and Hinward, A.H. An investigation into the possibility of tansy ragwort poisoning of Black-Tailed deer. *Journal of Wildlife Diseases* 10(2), 166-169; april 1974.
- 040.- Deinzer, M.L.; Thomson, P.A.; Burgett, D.M. and Isaacson, D.L. Pyrrolizidine alkaloids: Their occurrence in honey from tansy ragwort (Senecio ja-

- 040.- cobaea L.). Science, 195: 497-499; february 1977.
- 041.- Dick, A.T.; Dann, A.T.; Bull, L.B. and Culvenor, C.C.J. Vitamin B<sub>12</sub> and the detoxification pyrrolizidine alkaloids in rumen liquor. Nature 197: 207-208; 1963.
- 042.- Dickinson, J.O.; Cooke, M.P.; King, R.R. and Mohamed, P.A. Milk Transfer of pyrrolizidine alkaloids in cattle. JAVMA 169(11); 1192-1196; 1976.
- 043.- Dickinson, J.O. and King, R.R. The transfer of pyrrolizidine alkaloids - from Senecio jacobaea into the milk of lactating cows and goats. Effects of poisonous plants on livestock. Edited by Academic Press 1978.
- 044.- Dickinson, J.O. and Ball, R.A. Management of pyrrolizidine alkaloid toxicity. Californian Veterinarian Jan/Feb 39(1), 15-17; 1985.
- 045.- Dickson, J. and Hill, R. Cotton fireweed-potential poison. Journal of Agriculture Western Australia 18(3) 109-110; 1977.
- 046.- Donald, L.G. and Shanks, P.L. Ragwort poisoning rom silage. Brit. Vet. J. 112(8), 307-311; 1956.
- 047.- Doby, G.D. Tansy ragwort: A toxic threat to livestock. Modern Veterinary Practice, 56(3), 185-188; 1975.
- 048.- Evans, W.C. and Evans, E.T.R. Poisoning of farm animals by the Marsh ragwort (Senecio aquaticus Huds). Nature 164(1), 30-31; 1949.
- 049.- Feunteum, J. La carcinogénese vírica. Mundo Científico 1(1).
- 050.- Finn, J.P. and Tennant, B. Hepatic encephalopathy in cattle. Cornell Vet. 64: 136-153; 1974.
- 051.- Fowler, M.E. Pyrrolizidine alkaloid poisoning in calves. JAVMA 152(1), - 1131-1138; 1968.
- 052.- Gall, A.E. and Mostofi, F.K. Veno-occlusive disease of the liver. The W

- 052.- Illians and Wilkins Company Baltimore, 412-430; 1973.
- 053.- Garner, R.J. and Papworth, D.S. Toxicología Veterinaria. Ed. Acribia, traducido de la 3a. edición, 320-324; 1970.
- 054.- Garret, B.J. and Cheeke, P.R. Evaluation of aminoacids, B vitamins and butylated hydroxianisole as protective agents against pyrrolizidine alkaloid toxicity in rats. Journal of Animal Science 58(1), 138-144; 1984.
- 055.- Garret, B.J.; Holtan, D.W.; Cheeke, P.R.; Schmitz, J.A. and Rogers, Q.R. - Effects of dietary supplementation with butylated hydroxianisole, cysteine, and vitamins B on tansy ragwort (Senecio jacobaea) toxicosis in ponies. Am. J. Vet. Res. 45(3), 459-464; 1984.
- 056.- Goeger, D.E.; Cheeke, P.R.; Schmitz, J.A. and Buhler, D.R. Toxicity of tansy ragwort (Senecio jacobaea) to goats. Am. J. Vet. Res. 43(2) 252-254, February 1982.
- 057.- Goodman, L.S. and Gilman, A. Bases Farmacológicas de la Terapéutica. Ed. - Interamericana, 4a. edición, pp. 1053; 1978.
- 058.- Gopinath, C. and Ford, J.H. The effect of ragwort (Senecio jacobaea) on the liver of the domestic fowl (Gallus domesticus): A histopathological and enzyme histochemical study. Br. Poultry Sci. 18(2), 137-141; 1977.
- 059.- Grases, P.J. and Beker, G.S. Guía Práctica de Biopsia Hepática en el Adulto. Ed. Labor, impreso en España, pp. 64-65; 1974.
- 060.- Green, C.E.; Segall, H.J. and Byard, J.L. Metabolism, Cytotoxicity, and Genotoxicity of the pyrrolizidine alkaloid senecionine in primary cultures of rat hepatocytes. Toxicology and Applied Pharmacology 60, 176-185; 1981.
- 061.- Gullick, B.A.; Liu, I.K.M.; Qualls, C.W.; Gribble, D.H. and Rogers, Q.R. - Effect of pyrrolizidine alkaloid-induced hepatic disease on plasma amino a

- 061.- cid patterns in the horse. Am. J. Vet. Res. 41(11), 1894-1898; 1980.
- 062.- Ham, A.W. Histología. Ed. Interamericana, pp. 69-71; sexta edición en español 1975.
- 063.- Harris, P.N. and Chen, K.K. Development of hepatic tumors in rats following ingestion of Senecio ionqilobus. Cancer Research 30, 2881-2886; 1970.
- 064.- Haruki, N.; Uosaki, Y. and Yamada, K. Total synthesis of (±)-otonecine, a necine base of pyrrolizidine alkaloids, Tetrahedron Letters, 24(51), 5731-5732; 1983.
- 065.- Hélène, C. Las estructuras del ADN. Mundo Científico 4(38), 742-759.
- 066.- Hooper, P.T.; Best, S.M. and Murray, D.R. Hyperammonemia and spongy degeneration of the brain in sheep affected with hepatic necrosis. Res. Vet.-Sci. 16: 216-222; 1974.
- 067.- Hooper, P.T. The pathology of Senecio jacobaea poisoning of mice. J. Pathol. 113(4); 227-230; 1974.
- 068.- Hooper, P.T. Pyrrolizidine alkaloid poisoning pathology with particular reference to differences in animal and plant species. Effects of poisonous plants on livestock; edited by Academic Press; 1978.
- 069.- Hordin, J. and Arena, J. "Human poisoning from native and cultivated plants"; 2a. edition Duke University Press; Durham, North Carolina, 12-15; 1974.
- 070.- Howard, F.P. Reparación Inducible del ADN. Scientific American 245(5); 1981.
- 071.- Howard, T. Origen de los retrovirus. Mundo Científico 4(35), 408-418.
- 072.- Hunter, T. Proteínas de Oncogenes. Investigación y Ciencia 97; octubre 1984.
- 073.- Illmense, K. and Leroy, S.C. Teratomas y Quimeras (Químera o mosaico genético). Investigación y Ciencia 33, junio 1979.
- 074.- James, L.F. Major Toxic Plants. California Veterinarian 9: 21-26; 1983.
- 075.- Johnson, A.E. Changes in calves and rats consuming milk from cows fed chro

- 075.- nic lethal doses of Senecio jacobaea (Tansy ragwort). Am. J. Vet. Res. -  
37(1), 107-110; january 1976.
- 076.- Johnson, A.E. Tolerance of cattle to tansy ragwort (Senecio jacobaea) Am.  
J. Vet. Res. 39(9), 1542-1544; september 1978.
- 077.- Johnson, A.E. Failure of mineral-vitamin supplements to prevent tansy rag  
wort (Senecio jacobaea) toxicosis in cattle. Am. J. Vet. Res. 43(4), 718-  
723; april 1982.
- 078.- Johnson, A.E. and Smart, R.A. Effects on cattle and their calves of tansy  
ragwort (Senecio jacobaea) fed in early gestation. Am. J. Vet. Res. 44(7),  
1215-1219; 1983.
- 079.- Johnson, A.E. and Molyneux, R.J. Toxicity of thread leaf grandseil (Senecio  
douglasii var longilobus) to cattle. Am. J. Vet. Res. 45(1), 26-31; 1985.
- 080.- Johnson, A.E.; Molyneux, R.J. and Stuart, L.D. Toxicity of Riddell's -  
groundsel (Senecio riddellii) to cattle. Am. J. Vet. Res. 46(3), 577-582;  
1985.
- 081.- Jubb, K.V.F. and Kennedy, P.C. Patologia de los Animales Domésticos, Ed.  
Labor (Barcelona); Traducción de Sánchez-Garnica y Montes, 260-263; 1974.
- 082.- Kurtand, J. and Norbert, K. Functional Hepatocellular Heterogeneity. Hepa  
tology 2(3), 1982.
- 083.- Kim, H.L.; Anderson, A.C.; Herring, B.W.; Jones, L.P. and Calhoun, M.C. -  
Protective effects of antioxidants on bitterweed (Hymenoxys odorata DC) -  
toxicity in sheep. Am. J. Vet. Res. 43(11), 1945-1950; 1982.
- 084.- Kurozumi, T.; Tanaka, K.; Kido, M. and Shoyama, Y. Monocrotaline-induced-  
renal lesions, Experimental and Molecular Pathology 39: 377-386; 1983.
- 085.- Kourilsky, P. y Gachelin, G. La organización de la información genética.-  
Mundo Científico 4(38), 718-727.

- 086.- Langley, D.P. Cáncer: Los riesgos de la alimentación. Mundo Científico - 4(33), 170-184; 1984.
- 087.- Lanigan, G.W. and Peterson, J.E. Bromosulphophthalein clearance rates in sheep with pyrrolizidine liver damage. Australian Vet. Journal, 55: 220 - 224; may 1979.
- 088.- Lehninger, A. Bioquímica, ediciones Omega 4a. reimpression 1007-1009; 1981.
- 089.- Lloyd, J.R. The use of a liver function test in the prognosis of ragwort poisoning in cattle. Vet. Record 69(25), 623-625; 1957.
- 090.- Mattocks, A.R. Toxicity of pyrrolizidine alkaloids. Nature, 217: 723-728; february 24 1968.
- 091.- Mattocks, A.R. Recent studies on mechanisms of cytotoxic action of pyrrolizidine alkaloids. Effects of poisonous plants on livestock, edited by - Academic Press 1978.
- 092.- Mazia, D. The Cell Cycle. Scientific American 230(1); 1974.
- 093.- McGinness, J.P. Senecio jacobaea as a cause of hepatic encephalopathy. California Veterinarian 34(3), 21-23; 1980.
- 094.- McLean, E.K. The toxic action of pyrrolizidine (Senecio) alkaloids. Pharmacological Rev. 22(4), 429-483; 1970.
- 095.- Miller, E.C. and Miller, J.A. Searches for ultimate chemical carcinogens and their reactions with cellular macromolecules. Cancer 47(10); may 1981.
- 096.- Miranda, C.L.; Cheeke, P.R.; Schmitz, J.A. and Buhler, D.R. Toxicity of - Senecio jacobaea (Tansy ragwort) in rats. Toxicology and Applied Pharmacology 56, 432-442; 1980.
- 097.- Miranda, C.L.; Cheeke, P.R. and Buhler, D.R. Effect of pyrrolizidine alkaloids from tansy ragwort (Senecio jacobaea) on hepatic drug-metabolizing

- 097.- enzymes in male rats. *Biochemical Pharmacology* 29: 2645-2649; 1980.
- 098.- Miranca, C.L.; Henderson, M.C. and Buhler, D.R. Dietary copper enhances the hepatotoxicity of Senecio jacobaea in rats. *Toxicology and Applied Pharmacology* 60, 418-423; 1981.
- 099.- Molyneux, R.J.; Johnson, A.E.; Roitman, J.N. and Benson, M.E. Chemistry of toxic range plants - Determination of pyrrolizidine alkaloid content and composition in *Senecio* species by nuclear magnetic resonance spectroscopy. *J. Agric. Food. Chem.* 27(3), 494-499; 1979.
- 100.- Montesano, R. and Slaga, T.J. Initiation and Promotion in carcinogenesis - an appraisal, *Cancer Surveys* 2(4) 1983.
- 101.- Murl, B. Physiologic responses of livestock to toxic plants. *Journal of Range Management*, 31(5), 343-347; 1978.
- 102.- Nathan, P.J. *Cromatografía. Editorial Edicol, S.A.; primera edición México 1975.*
- 103 - Nicolson, L.G. Metástasis Cancerosas. *Investigación y Ciencia* 32; mayo 1979.
- 104.- Olacoso, L.A. and Case, A.A. Large animal hepatotoxic and nephrotoxic plants. *Veterinary and Human Toxicology*, 21(5), 363-365; 1979.
- 105.- Paniagua, C.M. *Plantas Tóxicas de México (Tesis).UNAM, Biología 1973.*
- 106.- Parcee, B.A.; Dubrow, R.; Hamlin, J.L. and Kletzien, R.F. *Animal Cell Cycle. Ann. Rev. Biochem.* 47: 715-750; 1978.
- 107.- Paterson, J.E. Effects of the pyrrolizidine alkaloid, lasiocarpine N-oxide, on nuclear and cell division in the liver of rats. *J. Path. Bact.* 89(1), 153-171; January 1965.
- 108.- Paterson, M.C.; Gentner, N.E.; Middleton, M.V. and Weinfeld, M. Cancer Predisposition, carcinogen hypersensitivity, and aberrant DNA metabolism.

- 108.- Journal of Cellular Physiology Supplement 3: 45-62; 1984.
- 109.- Pearson, E.G. Clinical Manifestations of tansy ragwort poisoning. Modern Veterinary Practice 58(5), 421-424; may 1977.
- 110.- Pearson, E.G. and Craig, A.M. The diagnosis of liver disease in equine - and food animals (Part I). Modern Veterinary Practice, 61(3), 233-237; 1980.
- 111.- Pearson, E.G. and Craig, A.M. The diagnosis of liver disease in equine - and food animals (Part II). Evaluation of liver damage and functional - failure. Modern Veterinary Practice, 61(4), 315-320; 1980.
- 112.- Pérez, T.R. Enfermedad Venó-oclusiva del hígado. Comunicación de un caso estudiado en México. Patología 19(3-4), 277-284; 1981.
- 113.- Pierson, M.L.; Cheeke, P.R. and Dickinson, E.O. Resistance of the rabbit to dietary pyrrolizidine (Senecio) alkaloid. Research Communications in Chemical Pathology and Pharmacology 16(3), 561-564; march 1977.
- 114.- Podestá, M. and Tórtora, J.L. Seneciosis en bovinos su comprobación en - el Uruguay. Veterinaria (Soc. Med. Vet. Uruguay) 12(64), 97-112; 1977.
- 115.- Quer, P.F. Plantas Medicinales. El Dioscórides Renovado. Ed. Labor S.A.- Barcelona, 1962.
- 116.- Rapaport, E.H.; Díaz, B.M.E. y López, M.I. Aspectos de Ecología Urbana - en la Ciudad de México, Flora de las Calles y Baldíos. Ed. Limusa 1983.
- 117.- Robbins, S.L. Patología Estructural y Funcional. Ed. Interamericana, pri - mera edición en español 1975.
- 118.- Rojkind, M. and Kershenobich, D. Liver extracellular matrix: Fibrosis and cirrhosis. The Liver Annual, 180-210; 2/1982.
- 119.- Rojkind, M. Fisiopatología de la fibrosis hepática. Memorias del Segundo Simposium Internacional Hispanoparlante de Hepatología CINVESTAV-IPN; 1985.

- 120.- Radeleff, R.D. *Veterinary Toxicology*. Ed. Lea & Febinger, second edition, 127-133; 1970.
- 121.- Rosiles, R. y Paasch, L. Megalocitosis hepática en ovinos. *Veterinaria* - 13(3), 151-153; julio-septiembre 1982.
- 122.- Saffhill, R.; Margison, G.P. and O'Connor, P.J. Mechanisms of carcinogenesis induced by alkylating agents. *Biochemica et Biophysica Acta* 823: 111-145; 1985.
- 123.- Sánchez, S.O. *La flora del estado de México*. Ed. Herrero S.A. 5a. edición, 429; 1979.
- 124.- Sarasin, A. El Cáncer y la reparación del ADN. *Mundo Científico* 1(7) 724-737.
- 125.- Scott, R.E.; Wille, J.J. and Wier, M.L. Mechanisms for initiation and promotion of carcinogenesis: A review and appraisal new. *Mayo Clin. Proc.* - 59: 107-117; 1984.
- 126.- Schoental, R. And Magee, P.N. Chronic liver changes in rats after a single dose of lasiocarpine a pyrrolizidine (Senecio) alkaloid. *J. Path. Bact.* 74: 305-319; 1957.
- 127.- Schoental, R. Hepatotoxic action of pyrrolizidine (Senecio) alkaloids in relation to their structure. *Nature* 175(4555), 361-363; 1957.
- 128.- Schoental, R. and Magee, P.N. Further observations on the subacute and - chronic liver change in rats after a single dose of various pyrrolizidine (Senecio) alkaloids. *J. Path.; Bact.* 78: 471-482; 1959.
- 129.- Schoental, R. Liver Lesions in young rats suckled by mothers treated with the pyrrolizidine (Senecio) alkaloids, lasiocarpine and retrorsine. *J. - Path. Bact.* 77: 485-495, 1959.
- 130.- Schoental, R. and Bensted, J.P.M. Effects of whole body irradiation and -

- 130.- of partial hepatectomy on the liver lesions induced in rats by a syngle - dose of retrorsine a pyrrolizidine (Senecio) alkaloid. British Journal of Cancer 17(2), 242-251; 1963.
- 131.- Schoental, R. Toxicology and carcinogenic action of pyrrolizidine alkaloids. Cancer Research 28: 2237-2246; november 1968.
- 132.- Segall, H.J. and Molyneux, R.J. Identification of pyrrolizidine alkaloids (Senecio longilobus). Research Communications in Chemical Pathology and - Pharmacology 19(3), 545-548; 1978.
- 133.- Seidegard, J. Microsomal epoxide hidrolase: Characterization, induction - and in vitro modulation, of the catalytic activity. Departament of Bioche - mistry Stockholm 1982.
- 134.- Selzer, G. and Parker, C.B. Senecio poisoning exhibiting as Chiari's Syn - drome. The American Journal of Pathology 27(5): 885-907; 1951.
- 135.- Shull, L.R.; Buckmaster, G.W. and Cheeke, P.R. Effect of pyrrolizidine al - kaloids on liver microsome mixed-function oxidase activity in rats. Jour - nal of Animal Science 43(5), 1024-1027; 1976.
- 136.- Shull, L.R.; Buckmaster, G.W. and Cheeke, P.R. Factors influencing pyrro - lizidine (Senecio) alkaloid metabolism: Species, liver sulphydrils and ru - men fermentation. Journal of Animal Science 43(6), 1247-1253; 1976.
- 137.- Stillman, A.E.; Huxtable, R.; Consroe, P.; Kohnen, P. and Smith, S. Hepa - tic veno-occlusive disease due to pyrrolizidine (Senecio) poisoning in - Arizona. Gastroenterology 73: 349-352; 1977.
- 138.- Svoboda, R. and Soga, J. Early effects of pyrrolizidine alkaloids on the - fine structure of rat liver cells. The American Journal of Pathology 48(3); 347-373; march 1966.

- 139.- Swick, R.A.; Cheeke, P.R. and Buhler, D.R. Effect of sheep rumen fermentation on the toxicity of tansy ragwort (Senecio jacobaea). Journal of Animal Science 49 suppl 1, 412; 1979.
- 140.- Swick, R.A.; Cheeke, P.R.; Goeger, D.E. and Buhler, D.R. Effect of dietary Senecio jacobaea and injected Senecio alkaloids and monocrotaline on - Guinea pigs: Journal of Animal Science 55(6); 1411-1417; 1982.
- 141.- Swick, R.A.; Cheeke, P.R.; Patton, N.M. and Buhler, D.R. Absorption and excretion of pyrrolizidine (Senecio) alkaloids and their effects on mineral metabolism in rabbits. Journal of Animal Science 55(6); 1417-1424; 1982.
- 142.- Swick, R.A.; Cheeke, P.R. and Buhler, D.R. Subcellular distribution of hepatic copper, zinc and iron and serum ceruloplasmin in rats intoxicated by oral pyrrolizidine (Senecio) alkaloids. Journal of Animal Science, 55(6); 1425-1430; 1982.
- 143.- Swick, R.A.; Miranda, C.L.; Cheeke, P.R. and Buhler, D.R. Effect of phenobarbital on toxicity of pyrrolizidine (Senecio) alkaloids in sheep. Journal of Animal Science, 56(4): 887-894; 1983.
- 144.- Taylor, P.; Hopkins, L.; Young, M. and McFadyen, I.R. Spongy degeneration in the brain in relation to hepatic disease and ammonia toxicity in domestic animals. Veterinary Record, 90(2): 37-38; 1972.
- 145.- Thornberry, D.S. and Itabashi, H.H. Pontine Spongy degeneration of white-matter associated with hepatic encephalopathy. Arch. Pathol. Lab. Med. - 108(7): 564-566; 1984.
- 146.- Thorpe, E. and Ford, E.J.H. Development of hepatic lesions in calves fed with ragwort (Senecio jacobaea). J. Comp. Path. 78(2): 195-205; 1968.
- 147.- Trainin, Z. and Essex, M. Immune Response to Tumor Cells in domestic ani-

- 147.- mals. JAVMA 181(10); 1982.
- 148.- Vardiman, P.H. The bromsulfalein liver function test and biopsy of the li  
ver in the diagnosis of Senecio poisoning in cattle. Am. J. Vet. Res. -  
14(51): 175-178; april 1953.
- 149.- Walker, K.H. and Kirkland, P.D. Senecio laetus toxicity in cattle. Austr  
lian Veterinary Journal, 57; january 1981.
- 150.- Waring, M. DNA modification and cancer. Ann. Rev. Biochem. 50: 159-192; 1981.
- 151.- Weinberg, R.A. A molecular basis of cancer. Scientific American 249 (5);-  
november 1983.
- 152.- White, R.D. and Swick, R.A. Effects of dietary copper and molybdenum on -  
tansy ragwort (Senecio jacobaea) toxicity in sheep. Am. J. Vet. Res. 45(1);  
january 1984.
- 153.- Williams, G.H.; Mori, H.; Hirono, I. and Nagao, M. Genotoxicity of pyrro  
lizidine alkaloids in the hepatocyte primary culture/DNA-repair test. Mu  
tion Research, 79: 1-5; 1980.
- 154.- Zambrano, F. y Santiago, M. Reparación enzimática del genoma lesionado. -  
Ciencia y Desarrollo No 60; enero-febrero 1985.
- 155.- Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, UNAM. Memorias del Primer -  
Curso de Actualización en Toxicología Veterinaria Vol. 1 y 11; octubre 1981.
- 156.- Herbario de Biología de la Preparatoria Agrícola. "Relación de Compuestas  
tóxicas para el ganado". Biblioteca Preparatoria de La Universidad Autóno  
ma de Chapingo, México.
- 157.- National Academy of Sciences. Control de Plagas y Animales Nocivos en -  
las Plantas y como Combatirlos Vol 2; editorial Limusa México, pp. 482;-  
1982.