

EFECTOS ADVERSOS DE LOS EXTRACTOS DE LA PLANTA SENEIO FORMOSUS (ARNICA) EN EL HIGADO HUMANO Y EN EL ANIMAL DE EXPERIMENTACION (E. V-O. H.)

M. ARGÜELLO, G. TORO, J. E. OSPINA, F. C. MUÑOZ

Se realizó un estudio fitoquímico de la planta *Senecio formosus* "árnica" y se encontró que de los 7 alcaloides que contiene, el 50% lo constituye la retrorsina; la base química de este alcaloide pertenece al grupo de los ésteres de las 1 - hidroximetil -1:2-de hidro - 7 hidroxipirrolizidinas y es la responsable directa de la acción hepatotóxica de esta planta.

El estudio farmacológico experimental que practicamos en ratones demostró que las máximas lesiones se obtienen administrando por vía oral los alcaloides de las hojas y las lesiones en el animal experimental

fueron sensiblemente asimilables a las que observamos en 21 biopsias y 11 necropsias humanas. Esta es la primera experiencia que se realiza en animales con base en el *Senecio formosus*.

El estudio clínico, de laboratorio y los cambios histopatológicos al microscopio de luz establecen plena coincidencia en nuestros 16 casos colombianos y las series previamente descritas.

Se subraya la gran importancia de los estudios endoscópicos toda vez que se sospecha la posibilidad de una enfermedad veno-oclusiva del hígado consecutiva a la ingestión de infusiones de árnica.

Es ésta la segunda oportunidad en que se ha investigado ampliamente la ultraestructura de las alteraciones hepáticas producidas en el hombre por el *Senecio formosus*.

Podemos establecer que estos cambios son estrechamente comparables con los obtenidos experimentalmente en diversas especies animales.

INTRODUCCION

En nuestra medicina popular es común el uso de plantas aunque la mayoría de las veces se desconoce el fundamento científico de su eventual acción y se ignoran sus efec-

Dr. Milton Argüello J.: Profesor Titular de Medicina Interna, jefe Sección de Gastroenterología, Facultad de Medicina Universidad Nacional, Bogotá; Dr. Gabriel Toro G.: Profesor Asociado de Patología, Facultad de Medicina Universidad Nacional, Miembro del grupo de Patología del Instituto Nacional de Salud, Bogotá; Dr. Julio E. Ospina: Director Sección de Microscopía Electrónica, Instituto Nacional de Cancerología, Director Instituto Nacional de Cancerología, Bogotá; Dra. Flor Cecilia Muñoz Q.: Químico Farmacéutico, Universidad Nacional de Colombia.

Trabajo ganador del Premio "Caja Nacional de Previsión- Gustavo Montejó" y Congreso Colombiano de Medicina Interna, 1976, Bogotá.

Solicitud de separatas al Dr. Argüello.

tos colaterales; éste es concretamente el caso del *Senecio formosus* conocido comúnmente como "árnica".

El hábito tan común en nuestras gentes de usar el "árnica" en forma de cataplasmas o ingerida en infusiones y tinturas nos permitió en un lapso inicial de 5 años (1.964 - 1.968) observar los primeros 9 casos colombianos de los efectos nocivos para el hígado ocasionados por su ingestión (1). Decidimos entonces realizar este trabajo cuyos objetivos han sido, por una parte el estudio fitoquímico y farmacológico del *Senecio formosus* para determinar la naturaleza, hasta ahora desconocida, de las sustancias que posee y mediante la experimentación farmacológica, administrando a ratones los extractos de las hojas completas, de las hojas desengrasadas o los alcaloides totales presentes en ellas, identificar las sustancias responsables de su toxicidad estudiando las lesiones precoces producidas en el hígado del animal de experimentación. El otro propósito es presentar los aspectos clínicos, de laboratorio y los hallazgos histopatológicos en biopsia y/o en autopsia de los 16 casos humanos de Enfermedad Venooclusiva del Hígado (E.V -O.H.) consecutiva a la ingestión de "árnica", que en el lapso de 12 años (1.964 - 1.976) se han podido identificar en nuestro país.

En nuestra revisión sólo encontramos un antecedente sobre el estudio ultraestructural de biopsia de hígado humano con E.V-O.H. (2) , aspecto al que hemos dedicado especial atención.

ESTUDIO FITOQUIMICO DEL SENECIO FORMOSUS

Material y métodos

Material vegetal: se trabajó con el *Senecio formosus* H.B.K., clasificado por el Profesor Hernando García Barriga. El ejemplar correspondiente figura en el Herbario Nacional Colombiano Bajo el No. 135565 (Figura 1) y su clasificación botánica es: División: Embriofitas Sifonogamas. Clase: Dicotiledóneas. Orden: Campanulales. Familia: Compositae. Género: *Senecio*. Especie: *formosus*.

Nombres vulgares: Arnica, árnica falsa, árnica de Bogotá (Páramo de Choachí), ár-

nica de páramo (Páramo de Guasca), árnica colombiana.

Características: Es una planta herbácea, erecta, distribuida en los páramos de la cordillera oriental de Colombia, (también existe en Venezuela y Ecuador), en pisos térmicos entre los 2.800 y 4.000 metros de altura sobre el nivel del mar.

Recolección del material vegetal: se efectuó en el Páramo de Guasca a 3.000 metros sobre el nivel del mar, el 15 de Septiembre de 1.973 y en el Páramo de Palacio a 3.200 metros sobre el nivel del mar, el 6 de Diciembre de 1.973.

Preparación del material: Se separaron las hojas, el tallo, la raíz y las flores y se analizaron separadamente.



Figura 1. *Senecio formosus*, "árnica"

Análisis fitoquímico preliminar: Fue realizado con el polvo de las hojas, y con el polvo de la raíz y el tallo según la técnica de M.E. Wall (3); con el extracto obtenido de color verde oscuro, se practicaron las siguientes investigaciones.

Saponinas: Negativo (prueba de espu-

Tabla 1.-Pruebas cualitativas para los alcaloides del *Senecio Formosus*.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
HOJAS	+++	++++	++++	++++	++++	++++	+++	+	-	+
RAIZ Y TALLO	++	++	+++	++	+++	+++	++	+	-	-

+++ MUY ABUNDANTE

++ ABUNDANTE

+ POCO

+ MUY POCO

- NADA

1.- VALSER

2.- BERTRAN

3.- MAYER

4.- BOUCHARDAT

5.- WAGNER

6.-DRAGENDORFF

7.-SONNENSCHNEID

8.- HAGER

9.- REINECKATO DE AMONIO

10.- TRICLORURO

ma y de hemólisis de glóbulos rojos).

Flavonoides: Negativos.

Ácidos y Fenoles: Positivos.

Taninos: Positivos.

Alcaloides: La Tabla 1 resúmenes reactivos utilizados y el resultado de los análisis.

Mediante este estudio se demostraron las mismas sustancias en las hojas, la raíz y el tallo, pero con mayor concentración en las hojas, por lo cual la experimentación se realizó con polvo de éstas.

Marcha fitoquímica según Floriani (4): Con el polvo de las hojas del *Senecio formosus* se llevó a efecto la marcha Fitoquímica de Floriani para plantas medicinales, modificada por Calderón (5) que consta de dos fases.

Primera fase: Con 50 gramos del polvo de hojas, expuesta durante 6 horas al baño de María con una mezcla de éter etílico y cloroformo se obtiene una solución, que luego se evapora; el residuo se divide en dos partes, una se trata con 15ml. de HCl al 15% y otra con 15ml. de NaOH al 2%.

Ácidos orgánicos: Se investigaron en la solución alcalina y fueron positivos.

Otros análisis: Ceras (-), Grasas (+) Ácidos grasos (+). Principios amargos (+) Resinas y Pigmentos (-) Alcaloides (+).

Segunda fase: 50 gramos de material pulverizado y tamizado se someten a una destilación por arrastre de vapor de agua. Se investiga:

Alcaloides volátiles (-)

Ácidos volátiles (-)

Aceite esencial (+) que se oxida rápidamente y es de olor repugnante.

La presencia de sustancias grasas y alcaloides se consideró el hallazgo más importante por lo cual se procedió a su extracción para efectuar con ellas el estudio toxicológico y farmacológico.

Extracción de las sustancias grasas: Probada la técnica cualitativa para extracción de sustancias grasas, se procedió a su determinación cuantitativa con 335.2 gr. del polvo de las hojas obteniéndose un residuo que pesó 23 gr. (extracción con éter de petróleo).

Extracción y purificación de los alcaloides: Según la técnica de Novelli (6), 300 gramos del polvo de las hojas se sometieron a una extracción en caliente con 3 porciones sucesivas de etanol al 95%, pero se observó que se perdía una cantidad considerable de los alcaloides, por lo cual se hicieron modificaciones al método para la determinación cuantitativa, obteniéndose en 200 gramos de polvo de las hojas 1.04 gr. de una mezcla de color amarillento cuyas características correspondían a las de los alcaloides totales.

Aislamiento y purificación del alcaloide principal: Para aislar el alcaloide principal, por cromatografía en capa fina, se aplicó extracto clorofórmico a los alcaloides totales en banda sobre 20 placas de sílice GEL G., de 500 micrones de espesor.

Las placas se desarrollaron con cloroformo - metanol - amoníaco 85:14:1 v/v. Se

observó el comportamiento cromatográfico del compuesto y su pureza.

Al evaporar, a sequedad el extracto clorofórmico quedó el alcaloide principal en forma cristalina impura con una sustancia amarillenta, amarga y de naturaleza no alcaloide. Para eliminar estas impurezas se llevó a cabo una recrystalización del alcaloide con etanol absoluto en caliente como lo recomiendan algunos investigadores. (7,8).

Cromatografía comparativa: Con muestras de los alcaloides del Senecio, retrorsina e integerrimina, gentilmente cedida por la Universidad de Sao Paulo, fue posible practicar cromatografía comparativa del extracto clorofórmico.

Resultados

El análisis fitoquímico preliminar demostró que se encuentran las mismas sustancias tanto en las hojas, como en la raíz y el tallo, pero en mayor proporción en las hojas por lo cual fueron escogidas para el presente estudio.

En la Tabla 2 observamos los resultados obtenidos en las marchas fitoquímicas efectuadas con las hojas del Senecio formosus.

Los extractos obtenidos con el alcohol etílico al 95% y acetona dieron resultados positivos para alcaloides, por lo cual se consideran estos los mejores solventes, mientras que la mezcla eter etílico-cloroformo (1:1) dió resultado negativo para precipitación de alcaloides.

El estudio cuantitativo de las sustancias grasas obtenidas correspondió a un 6.85% P/P del polvo de las hojas consideradas como sustancia seca. La determinación cuantitativa de los alcaloides obtenidos correspondió aun 0.52% p/p del polvo de las hojas consideradas como sustancia seca.

Se ensayaron diferentes absorbentes y solventes pero se observó que con el solvente para cromatografía, cloroformo-metanol-amoniaco, 60:10:0.5 V/V, y usando como Sílice Gel G, es posible identificar cinco alcaloides, pero en el solvente cloroformo-metanol-amoniaco, 85:14:1 V/V, empleando como soporte Sílice Gel G, el resultado fue superior ya que pudimos identificar siete alcaloides uno de los cuales, el alcaloide principal, constituye el 50% del total.

En la Tabla 3 observamos los resultados obtenidos con la cromatografía comparativa. El alcaloide principal corresponde a la mancha número cuatro y tiene características cromatográficas y reacción frente al revelador similares a las de la retrorsina patrón. El alcaloide presente en la mancha número seis presenta características cromatográficas y reacción frente al revelador similares a la integerrimina patrón. Lo anterior se observó en todos los sistemas de solventes usados.

En la Tabla 4 se observan los resultados obtenidos en las cromatografías del extracto clorofórmico del alcaloide principal.

Tabla 2. Marcha Fitoquímica con las hojas de Senecio Formosus.

SUSTANCIA	CONCENTRACION	SUSTANCIA	CONCENTRACION
TANINOS	+	SAPONINAS	-
ACIDOS ORGANICOS	+	HETEROSIDOS CARDIOTONICOS	-
FENOLES	+	FLAVONOS	-
ESTEROLES INSATURADOS	+	RESINAS	-
ACIDOS GRASOS	+	CERAS	-
PRINCIPIOS AMARGOS	+	FITOSTECOL	-
ACEITES ESENCIALES	+	PIGMENTOS	-
ALCALOIDES	++	ALCALOIDES VOLATILES	-
GRASAS	+++	ACIDOS VOLATILES	-

Tabla 3.- Resultados de la cromatografía

SOLVENTE:	CLOROFORMO - METANOL - AMONIACO 85:14:1 V/V		
PLACAS:	SILICA GEL G. 250 MICRONES.		
REVELADOR;	REACTIVO DE DRAGENDORFF.		
COMPUESTO	MANCHA No.	R.F.	COLOR
EXT. ALCALOIDES	1	0.0	NARANJA
	2	0.07	NARANJA
	3	0.11	NARANJA
	4	0.52	NARANJA
	5	0.74	NARANJA
	6	0.83	NARANJA
	7	0.91	NARANJA
RETRORSINA		0.51	NARANJA
INTEGERRIMINA		0.83	NARANJA

Tabla 4.-Cromatografía del alcaloide principal.

SOLVENTE: CLOROFORMO - METANOL - AMONIACO 85 14: 1 v/v			
PLACAS: SILICA GEL G. 250 MICRONES			
REVELADOR: REACTIVO DE DRAGENDORFF			
COMPUESTO	R.F.	COLOR	COMENTARIOS
ALCALOIDE PRINCIPAL	0.52	ANARANJADO	SE COMPORTA COMO LA RETRORSINA PATRON.
RETRORSINA	0.52	ANARANJADO	
INTEGERRIMINA	0.83	ANARANJADO	

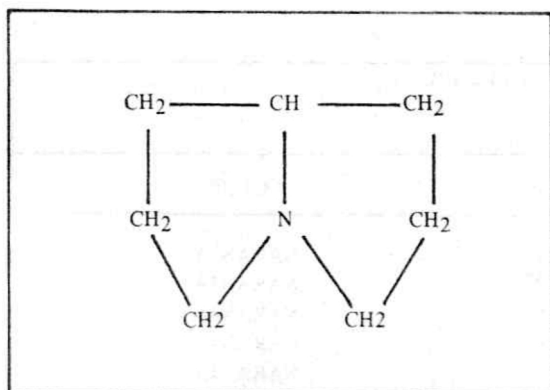
Al revelar varias placas de cromatografía bidimensional (para comprobar la pureza del compuesto aislado) con reactivo de Dragendorff se observó una sola mancha; al hacerlo con yodo-cloroformo se advirtió la presencia de una impureza no alcaloidal que acompaña al alcaloide principal, lo mismo que al evaporar a sequedad el extracto clorofórmico.

No se logró la precipitación del alcaloide principal después de su recrystalización con etanol absoluto, lo cual puede deberse a la pequeña cantidad del alcaloide obtenido.

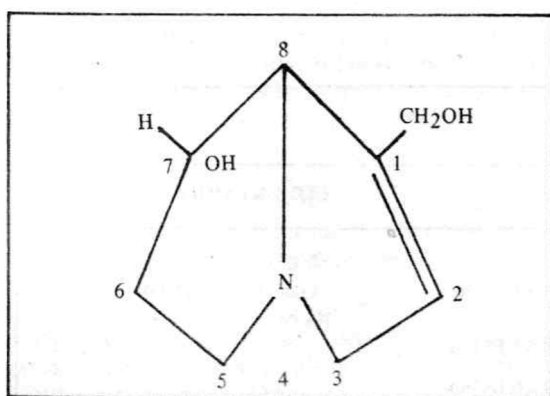
Una vez demostrado que el alcaloide principal contenido en las hojas del Senecio formosus (árnica) correspondía al retrorsina creímos terminado el estudio fito-químico anotando que los componentes de

esta especie contienen alcaloides que pertenecen al grupo de las pirrolizidinas (Gráfica 1), de las cuales se han descrito aproximadamente 50 pero no todas con acción hepatotóxica. Las que poseen esta acción, entre las que se encuentra el alcaloide principal obtenido del Senecio formosus (Gráfica 2), se caracterizan por ser ásteres de las 1- Hidroximetil-1:2- Dehidro- 7 hidroxipirrolizidinas con ácidos hidroxilados o insaturados, conocidos como ácidos néricos, teniendo 4, 5 o 6 cadenas carbonadas y ramificadas.

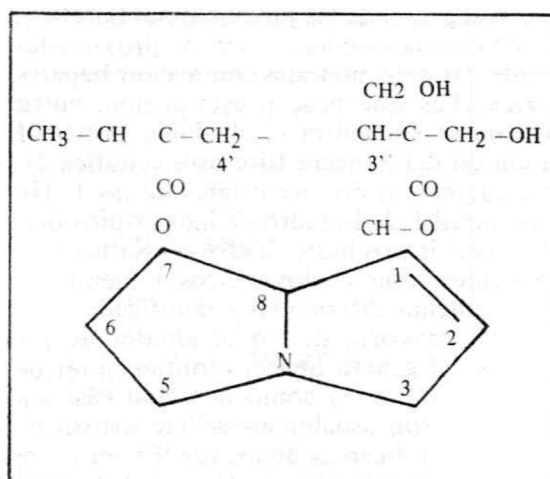
La mayoría de los alcaloides de las plantas del género Senecio contienen retronecina (Gráfica 3) como la mitad básica y los ácidos son usualmente adípicos sustituidos. La significancia de los sustituyentes individuales en relación con la actividad hepatotóxica no se ha definido claramente aún.



Gráfica 1 PIRROLIZIDINA



Gráfica 2- R1TRORSINA



Gráfica 3- RETRONECINA ESTER CICLICO

ESTUDIO FARMACOLOGICO Y EXPERIMENTACION ANIMAL.

Material y métodos.

Con el objeto de comprobar la acción hepato-tóxica de los alcaloides del *Senecio formosus* y observar las lesiones iniciales en el hígado de los animales, se llevó a cabo una serie de experiencias en roedores y en un ovino.

Se emplearon ratones machos de aproximadamente 4 meses de edad que pesaban entre 27 y 30 gramos, colocados en cajas de metal y sometidos a una dieta a base de "Purina" para roedores.

Experimento No. 1: Toxicidad por vía oral del extracto acuoso del polvo de las hojas. Se trabajó con 20 ratones, divididos en dos grupos; a un grupo de 10 ratones se les dió como bebida una solución al 5% (con respecto al polvo de las hojas). Como promedio cada ratón ingirió 2ml. diarios, equivalentes a una dosis de 3.3gr./kg. En el otro grupo, tomado como patrón, se administró agua corriente como bebida.

Tres de los ratones que bebieron el extracto murieron al cabo de 4 semanas y sus hígados fueron extraídos para examen histopatológico.

A las 8 semanas, 2 ratones de los sobrevivientes que estaban tomando el extracto de la planta y 2 del grupo control fueron sacrificados y se extrajeron sus hígados con el mismo fin.

Experimento No. 2: Toxicidad por vía oral del extracto de las sustancias grasas. Se trabajó con 5 ratones, a 3 de los cuales se les dió por vía oral 0.5 ml. de solución acuosa al 5%. Dos ratones fueron dejados como controles. No se observó acción inmediata, se sacrificaron los ratones a las 4 semanas para estudio histopatológico del hígado.

Experimento No. 3: Toxicidad por vía oral del extracto de las hojas desengrasadas. Se utilizaron 20 ratones, con el mismo esquema del experimento No. 1, pero en esta ocasión se empleó el polvo de las hojas desengrasadas. Al cabo de 4 semanas, tres de los ratones que bebieron la solución murieron y sus hígados fueron extraídos para examen histopatológico.

A las 8 semanas dos de los ratones sobrevivientes que estaban tomando el extrac-

to y dos del grupo control fueron sacrificados para estudio histopatológico de sus hígados.

Experimento No. 4: Toxicidad por vía intraperitoneal del extracto acuoso de las hojas. Se realizó con 5 ratones, a tres de los cuales se les inyectó por vía intraperitoneal solución isotónica al 1 % respecto al polvo de las hojas con pH de 8.5 y dosis de 80mg Kg peso. Los otros dos ratones fueron dejados como patrones inyectándoles intraperitonealmente una solución salina con pH igual al de la solución acuosa de las hojas. Ocho semanas más tarde fueron sacrificados y sus hígados extraídos para examen histopatológico.

Experimento No. 5: Toxicidad por vía intraperitoneal del extracto alcohólico de las hojas. Se preparó extracto alcohólico a partir de 30 gr. del polvo de las hojas y se sometió a extracción con 300 ml. de etanol del 95% en un soxhlet durante 72 horas; el extracto alcohólico se evaporó y el residuo se disolvió en agua destilada para preparar una solución al 1% de pH neutro.

Se trabajó con 5 ratones, a 3 de los cuales se les inyectó por vía intraperitoneal 80 mg/Kg. de peso. Dos ratones fueron tomados como control inyectándoles intraperitonealmente una solución salina con pH igual al del extracto. Los ratones fueron sacrificados a las 8 semanas para estudio histopatológico del hígado.

Experimento No. 6: Toxicidad por vía oral de los alcaloides totales del polvo de las hojas. Se utilizó una solución de los alcaloides totales obtenida de la siguiente forma: 104gr. de los alcaloides totales obtenidos por el método de extracción ya descrito, se disolvieron en ácido cítrico al 1 %, se neutralizaron con soda 0.1N, hasta un pH de 8 aproximadamente, se completó volumen, obteniéndose una solución alcaloidal al 0.1 % con la cual se llevó a cabo el experimento.

Se tomaron 20 ratones, a 10 de los cuales se les colocó como bebida la solución de los alcaloides totales correspondiendo a una dosis diaria de 66.5 mg./Kg.

Diez ratones, utilizados como controles, bebieron agua corriente. La muerte de los animales que bebieron el extracto alcaloidal ocurrió a los 6, 22, 30 y hasta 50 días; en un término no superior a este último se sa-

cificaron dos animales de cada grupo para estudio histopatológico del hígado.

Experimento No. 7: Toxicidad por vía intraperitoneal de dosis únicas ascendentes de los alcaloides totales. Como en el estudio anterior se preparó una solución al 0.33% P/V. Se utilizaron 12 ratones, a 6 de los cuales se les inyectó por vía intraperitoneal la solución isotónica al 0.33% P/V de los alcaloides totales con las siguientes dosis:

Ratón No.	Dosis mg./Kg
1	30
2	60
3	100
4	120
5	240
6	480

Los 6 ratones restantes fueron dejados como patrones inyectándoles intraperitonealmente solución salina. A medida que fueron muriendo se les extirparon los hígados para examen histopatológico.

Experimento No. 8: Toxicidad por vía oral de una dosis única de los alcaloides totales. Se utilizó la misma solución de la experiencia anterior, se trabajó con 5 ratones a los cuales por medio de sonda gástrica se les administró 60 mg/kg. peso, luego se sacrificaron a los 30 días y se extirparon los hígados para estudio histopatológico.

Experimento No. 9: Se llevó a cabo con un ejemplar de la especie ovina al cual se le administró diariamente 1 gr./kg. peso de la planta por 25 días. El material seleccionado para estudio histopatológico, procesado en su etapa inicial por el Instituto Colombiano Agropecuario (I. C. A.), fue sometido luego en el Instituto Nacional de Salud y de acuerdo con el propósito central de este trabajo, a un grupo de técnicas histológicas especialmente orientadas a investigar las alteraciones en el retículo, los vasos, los canalículos, la célula hepática y demás elementos constitutivos del hígado. Se practicaron además de la tinción de hematoxilina-Eosina coloración para fibras reticulínicas, fibras elásticas, Tricromo de Masson y Hematoxilina-Acido fosfotúngstico (PTAH.). En muchos casos la necropsia fue total y en otros, incluyó, tres, cuatro o más órganos.

El material histopatológico se estudió a ciegas y posteriormente se confrontó con

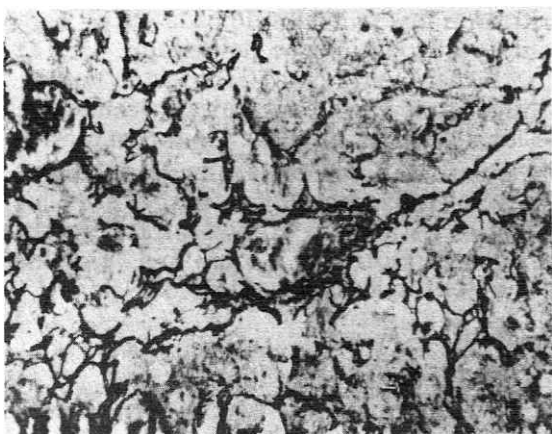


Figura 2.- Aumento de las fibras de reticulina y engrosamiento de la pared de una vena hepática pequeña en un ratón que recibió el alcaloide por vía oral durante 22 días. Tinción para retículo, 100 x Aprox.

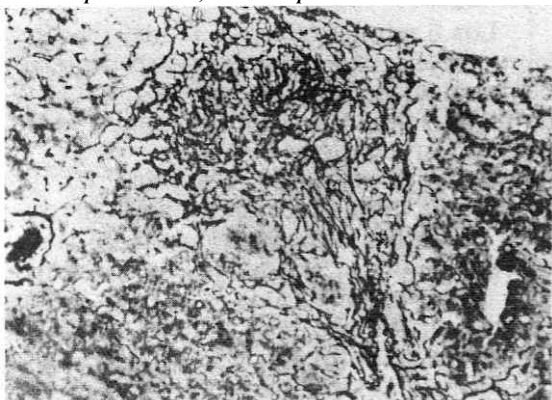


Figura 3.- Trama muy densa de fibras de reticulina con eliminación casi total de la luz de la pequeña vena que aparece en el centro, en un ratón que recibió por vía oral el alcaloide durante 30 días. Tinción para retículo, 100 x Aprox.

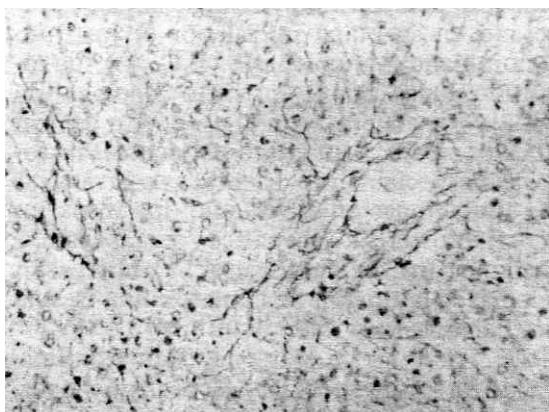


Figura 4.- Marcado engrosamiento de la pared y disminución proporcional de la luz de una vena hepática en el mismo animal de la Figura 3. Tinción para retículo, 250 x Aprox.

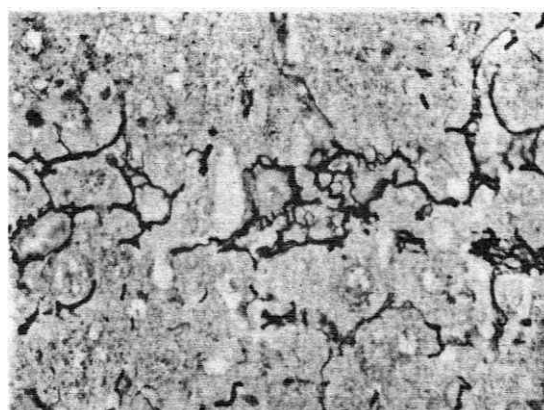


Figura 5.- Notoria fragmentación, cambios en el diámetro y amontonamiento de las fibras de reticulina, no solo en la contigüidad de las pequeñas venas que aparecen en el centro sino a distancia. Tinción para retículo, 250 x Aprox. Este ratón recibió el alcaloide por vía oral durante 30 días.

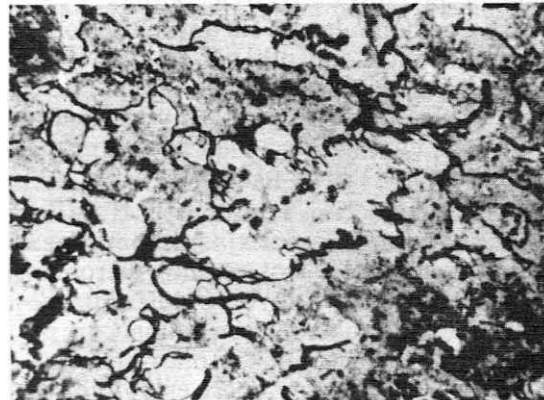


Figura 6.- La distribución anómala, fragmentación y colapso de las fibras de reticulina alcanzan la parte media del lobulillo. Tinción para retículo, 250 x Aprox. (Este ratón recibió el alcaloide por vía oral durante 50 días).

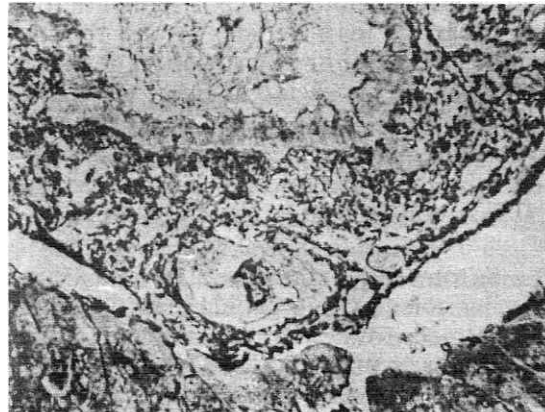


Figura 7.- El aumento marcado del espesor de la pared en este conducto biliar es fundamentalmente a base de fibras de reticulina. Tinción para retículo, 400 x Aprox. (Este ratón recibió el alcaloide por vía oral durante 30 días).

las condiciones de los diferentes experimentos.

Resultados

Nuestros hallazgos demuestran que los cambios máximos en el animal experimental se obtienen con el alcaloide de las hojas del *Senecio formosus*, administradas por vía oral; utilizando la vía intraperitoneal se producen alteraciones mínimas.

En nuestra experiencia las alteraciones básicas son exclusivas del hígado y lo principal es una alteración del retículo con aumento variable de las fibras de reticulina en la pared de las venas de menor calibre (Figuras 2, 3 y 4). Es notable la fragmentación de estas fibras con irregularidades en su diámetro, distribución anómala y franco colapso sobre todo en la zona del lobulillo contigua a las venas más afectadas pero también a mayor distancia alcanzando su parte media. (Figuras 5 y 6). Fué un hallazgo constante, comparable entre ratón y ovino en condiciones experimentales similares, que en el mismo animal alternen venas lesionadas con otras totalmente normales. Con frecuencia aproximada del 25% se observó un engrosamiento de la pared de los ductos biliares esencialmente a base de fibras reticulínicas (Figura 7) y otra vez alternan los ductos lesionados con ductos completamente normales. Los cambios hiperplásicos de la célula hepática, con frecuencia denominados megalocitosis y señalados como cambios básicos en la intoxicación con otras especies del *Senecio*, son en nuestro material discretos o inexistentes; fueron muy moderados en cinco animales que recibieron el tóxico por vía oral y solamente un ratón que mostraba frecuente necrosis hepatocelular tenía estos signos de regeneración. (Figura 8). Solo uno de los animales que recibió el extracto de las hojas por vía intraperitoneal hizo extensa oclusión séptica de la vena porta con varios infartos secundariamente infectados. Interpretamos esto como no relacionado con la acción tóxica de la planta sino más bien como efecto de trauma e infección en el curso del experimento.

No demostramos veno-oclusión en ningún órgano diferente al hígado, tal como lo habíamos notado en nuestros casos humanos. A nuestro modo de ver la coloración

más útil para el cambio veno-oclusivo es la de retículo.

Todas las lesiones histopatológicas que resumen lo positivo de nuestros hallazgos en este experimento las consideramos incipientes o tempranas y notamos semejanza de ellas con las alteraciones de biopsias obtenidas tempranamente en el curso de la E.V - O.H. en el hombre. Hemos ya planeado examinar los cambios tardíos en el animal experimental, la posibilidad de causar a largo plazo cirrosis y/o tumor y hacer comparaciones con etapas equivalentes de la lesión hepática en el hombre; igualmente aplazamos para entonces detallar las alteraciones clínicas que presenta el animal en las diferentes etapas de evolución.

La muerte de los animales cuando ocurrió espontáneamente no obedeció a la lesión hepática sino usualmente a una infección intercurrente, lo más común infección respiratoria y septicemia, tal vez facilitadas por una disminución de las defensas en el animal sometido a esta intoxicación.

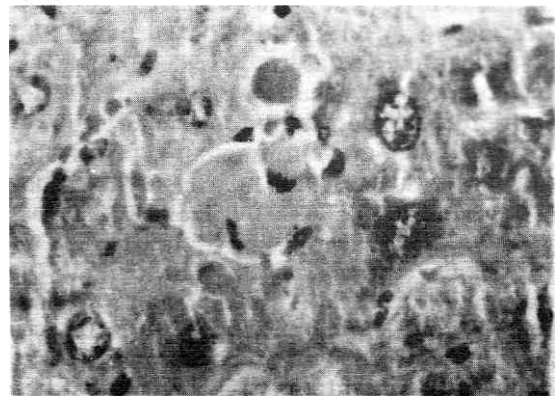


Figura 8.- El cambio nuclear claramente indicador de hiperplasia de los hepatocitos (megalocitosis) alterna en este ratón, que recibió el alcaloide por vía oral durante 50 días, con necrosis hepatocelular que se aprecia muy bien hacia el centro de la figura. Tinción H.E, 400 x Aprox.

RESEÑA HISTORICA

El primer informe sobre la acción tóxica de los Senecios fue dada en 1.883 por

Osler (9). En 1.904 Chase (10), en Sudáfrica, se refirió a una dolencia que atacaba a los caballos y sospechando que la lesión del hígado era producida por la ingestión de una planta del género *Senecio* (*S. burchellii* D.C.), reprodujo la lesión dando a los animales dicha planta en su alimentación.

Después de los trabajos de Watt (11) en 1.909 y de Cushny (12) en 1.911 se probó la responsabilidad de los alcaloides del *S. latifolius* en el daño hepático causante de la muerte de los animales de pastoreo en el Africa del Sur.

En los humanos, la primera descripción se refiere a la entidad conocida como "Bread Poisoning" por Albertyn en 1.918 según Willmot y Robertson (13); estos autores a su vez le atribuyen al *S. burchellii* D.C. y al *S. ilicifolius* Thun, plantas que contaminaban los cultivos del trigo utilizado en la fabricación del pan, la producción de cirrosis del hígado. Steyn en 1.930 amplió la investigación sobre el "Bread Poisoning" en su libro "The Toxicology of Plants in South Africa" (14) y concluyó que las especies del género *Senecio* eran las responsables de la enfermedad. Simultáneamente se desarrollaron otras investigaciones en relación con la enfermedad en el ganado, lo cual permitió identificar en Inglaterra y en Canadá el Ragwort (*S. jacobaea* L.) como causante de la enfermedad de Pictou, conocida en Nueva Zelanda como enfermedad de Winton. En Nebraska se señaló al *S. ridelli* como responsable de la "Walking Disease" de los caballos.

Un informe de 1976 (15) refiere numerosos casos humanos de E.V-O.H. en Afganistán consecutivos al consumo de pan hecho de trigo contaminado con semillas de *Heliotropium*; el examen de 7.200 habitantes de las aldeas afectadas mostró evidencia de enfermedad hepática en el 22.6%, Simultáneamente B.N. Tandon y colaboradores de Nereos Dehli (16) se refirieron a un brotesemejante, probablemente causado por consumo de cereales mezclados con semillas de la planta *Crotalaria spectabilis* que contiene alcaloides pirrolizidínicos, ocurrido entre noviembre y diciembre de 1.975 en el distrito de Sarguja en India y en el cual murieron el 42% de los 67 casos identificados.

En el continente americano hemos encontrado que especialmente Brasil (72-21) y después Argentina (4) y Venezuela (22) han dedicado atención al estudio de los *Senecios*.

En Colombia no existen trabajos respecto al *Senecio formosus* (árnica), ni sobre sus efectos nocivos. Por el contrario algunos autores lo consideran como planta medicinal. Enrique Pérez A. (23) dice que "es sudorífica, depuradora de la sangre y anti-sifilica", Santiago Cortés (24) la cita como "una planta empleada en baños calientes contra el reumatismo crónico". Según Eugenio Arias A. (25) "actúa como estimulante del sistema nervioso de la circulación de la sangre y de la respiración, es sudorífico, diurético y tiene múltiples efectos.

**ANALISIS CLINICO E
HISTOPATOLOGICO DE 16 CASOS
COLOMBIANOS DE E.V-O.H.**

Material y Métodos

El material para este estudio está constituido por 16 pacientes a los cuales se les diagnosticó E.V -O.H. En la historia clínica se hizo énfasis en el antecedente de ingestión de plantas de la especie Senecio y en el examen físico a las alteraciones relacionadas con el síndrome de hipertensión portal o al cuadro de insuficiencia hepática.

Se practicaron pruebas tendientes a establecer el funcionamiento hepático, en ocho casos laparoscopia y biopsia bajo control visual y en cinco esofagoscopia para poner en evidencia la presencia de várices esofágicas; para el estudio histopatológico del hígado se utilizaron tinciones de Hematoxilina-Eosina, coloración para fibras reticulínicas, fibras elásticas, Tricromo de Masson y Hematoxilina-Acido fosfotungstico (PTAH), especialmente orientadas hacia la investigación de las alteraciones en el retículo, de los vasos, los canalículos y las células hepáticas.

El estudio histopatológico en microscopio de luz fue realizado en 11 necropsias y 21 biopsias, éstas últimas practicadas en 13 pacientes; en siete biopsias se practicó estudio de ultraestructura; los tejidos fueron fijados en glutaraldehído al 2% en solución salina de Hank durante 6 horas a 4°C y fueron post-fijados en tetróxido de osmio al 2% en la misma solución, temperatura y tiempo.

Los tejidos fueron sometidos a la deshidratación habitual para microscopía electrónica, fijados en mezcla de Epón + Araldita: se cortaron con espesores de 500 Å en un ultramicrotomo Porter-Blum, luego se montaron en rejillas de 300 Mesh recubiertas con colodión al 0.5% reforzado con baño de carbón. Los cortes se examinaron en un microscopio electrónico JEM-7 Å con poder de aceleración de 80 Kv.

A continuación se hace un breve resumen de cada uno de los casos: 1. -H.C. 376455 H.S.J.D. Hombre de 36 años con antecedentes de ingestión de "árnica" durante varios años, quien 15 días antes de su ingreso presentó dolor en hipocondrio derecho y distensión abdominal.

Al examen físico se encontró tinte subictérico de escleras, ascitis y circulación colateral. En el servicio presentó hematemesis y melenas; cincuenta y dos días después de su ingreso falleció en coma hepático.

Laboratorio: Proteínas Totales 5.30 gms %. Albúmina 2.45 gms%, Globulina 2.45 gms. %, Bilirrubina Total 1.43 mgrs.%, Bilirrubina Conjugada 1.14 mgrs.%, Transaminasas G.O. 96 U., G.P. 85 U. Fosfatasa Alcalina 5.8 U.B., Rx. V.D.A.: várices esofágicas, duodeno deformado con posible nicho ulceroso. Biopsia Hepática compatible con cirrosis.

Autopsia 449-64: Várices esofágicas, ascitis de 8.000 ml. El hígado con aspecto de nuez moscada, pesa 950 grs. y tiene la imagen histopatológica de E.V-O.H.

2.- H.C. 401173 H.S.J.D. Mujer de 25 años con antecedentes de ingestión de "árnica", quien 20 días antes de su ingreso presentó dolor en hipocondrio derecho, sensación de distensión abdominal y pérdida progresiva de peso.

Al examen físico se observan conjuntivas subictéricas, ascitis y circulación colateral. En el servicio presenta marcada ictericia y muere 34 días más tarde en coma hepático.

Laboratorio; Hemoglobina 10 grs. %, Hematocrito 26%, Proteínas Totales 5.8 gms %, Albúmina 3.45 gms. %, Globulina 2.35 gms. o/o, Bilirrubina Total 3.6 mgrs.%, Bilirrubina Conjugada 2.64 mgrs. %.

Autopsia 292-65: Ascitis de 3.000 ml. El hígado, que semeja congestión pasiva crónica, pesa 1.050 grs y sus cambios histopatológicos corresponden a E.V-O.H.

3.-H.C. 15881 H.S.J.D. Hombre de 58 años quien tomó 4 tazas de infusión de "árnica" al día durante los últimos meses. 22 días antes de su ingreso presentó dolor en hipocondrio derecho, distensión abdominal y 15 días después edema de miembros inferiores.

Al examen físico se encontró un paciente icterico, con ascitis, hepatomegalia, telangiectasias y cianosis. En el servicio presentó al séptimo día, hematemesis y melenas y posteriormente murió en coma hepático.

Laboratorio: Proteínas Totales 5.8 gms.%, Albúmina 3.8 gms.%, Globulina 2 gms.%, Bilirrubina Total 3.9 mgrs.%, Bilirrubina Conjugada 3.7 mgrs.%, Fosfatasa Alcalina 11 U.B.

Autopsia 027-67: Várices esofágicas, ascitis de 1.500 ml. El hígado semeja la nuez moscada, pesa 1.000 grs. y tiene los cambios histopatológicos de E.V-O.H.

4.- H.C. 34862 H.S.I. Hombre de 57 años, bebedor de alcohol y de infusiones de "árnica", quien ingresa con antecedentes de dolor en hipocondrio derecho y distensión abdominal.

Al examen físico se encuentran ictericia generalizada, ascitis y hepatomegalia. Durante su control presenta episodios de precoma hepático y muere en coma hepático dos meses más tarde.

Laboratorio: Proteínas Totales 7.28 gms. %, Albúmina 4.08 gms. %, Globulina 3.20 gms.%, Bilirrubina Total 4.75 mgrs.%, Bilirrubina Conjugada 2.20 mgrs.%, Fosfatasa Alcalina 10 U.B., Esofagoscopia: Várices esofágicas. Dos biopsias hepáticas compatibles con E.V-O.H.

Autopsia 67-67: Várices esofágicas, ascitis de 4.000 ml. El hígado semeja la congestión pasiva crónica, pesa 1.200 grs. y tiene los cambios histopatológicos de la E.V-O.H.

5.-H.C.299235 I.C.S.S. Hombre de 47 años, con antecedentes de ingestión de infusiones de "árnica" (3 tazas diarias durante 15 días), quien dos meses antes de su ingreso presenta dolor en epigastrio y en dos ocasiones melenas: con diagnóstico de úlcera duodenal se practica laparotomía, encon-

trándose ascitis e hígado finamente nodular:

En el servicio aumenta la ascitis y muere en coma hepático siete días más tarde.

Laboratorio: Hemoglobina 17.8 grs. % Hematócrito 57%, Proteínas Totales 4.37 gms. %, Albúmina 3.2 gms %, Globulina 1.30 gms. %, Protrombina 11" (100%). Dos biopsias hepáticas compatibles con E. V-O.H.

Autopsia 021-67: Úlcera gástrica de 0.5 cms, en la pequeña curva; el hígado tiene aspecto de nuez moscada, pesa 1.250grs, y muestra los cambios histopatológicos de la E.V-O.H.

6.- H.C. 6531 H.S.J. Mujer de 50 años con antecedentes de ingestión de bebidas de yerbas que incluían "árnica" y cascabelitos, en la cual se diagnóstico I.C.C. por hipertensión arterial, habiendo sido tratada durante dos años; al estudio post-mortem se le diagnosticó E.V -O.H.

Autopsia 234-67 Se confirmaron los cambios de I.C.C., ascitis de 2.500 ml. El hígado es difusamente nodular, firme, pesa 2.000 grs. y microscópicamente muestracirrosis y los cambios de la E.V -O.H en fase tardía.

7.- H.S.V.P. Niño de 2 años, quien ingresa con ascitis de 15 días de evolución, hepatomegalia, edema de miembros inferiores y prolapso rectal.

Muere sesenta y dos días más tarde por bronconeumonía. El diagnóstico de E.V-O.H. se hace post-mortem.

Laboratorio: Proteínas Totales 5.1 gms.%, Albúmina 3 gms.%, Globulina 2.1 gms.%, Bilirrubina dentro de límites normales. Biopsia hepática subcapsular, no adecuada, compatible con cirrosis.

Autopsia 2.439: Meningo-encefalitis purulenta, bronconeumonía, colitis balantidianay ascitis; el hígado semeja la congestión pasiva crónica, pesa 475 grs. y tiene los cambios histopatológicos de la E.V-O.H.

8.- H.C. 103392 H.S.J. Mujer de 39 años, con antecedentes de ingestión de "árnica", quien tres meses antes de su ingreso presentó dolor en hipocondrio derecho y distensión abdominal.

Al examen físico se encontraron escleras subictéricas y ascitis. La laparoscopia mostró hígado de superficie nodular. La pa-

ciente fue dada de alta por mejoría y se controló con diuréticos.

Laboratorio: Proteínas Totales 6.8 gms.%, Albúmina 3.3 gms.%, Globulina 3.5 gms.%, Bilirrubina Total 2 mgrs.%, Bilirrubina Conjugada 0.2mgrs.%, Transaminasas G.O. 54 U.G.P. 18 U., Protrombina 14" (62%). Biopsias hepáticas (laparoscopia, laparotomía): Primera. compatible con cirrosis. Segunda: E.V-O.H.

9.- H.C. 45065 C.P.N. Hombre de 33 años, con antecedentes de haber tomado infusión de "árnica" en los últimos dos meses, quien seis días antes de su ingreso presentó dolor abdominal y vómito.

Al examen físico se encuentra abdomen distendido, doloroso a la palpación. Se intervino quirúrgicamente, encontrándose el hígado finamente nodular y severa ascitis. El paciente murió cinco días más tarde en coma hepático.

Laboratorio: Proteínas Totales 5.6 gms.%, Albúmina 2.04 mgr.%, Globulina 2.56 gms.%, Bilirrubina Total 0,6 mgrs.%, Transaminasas G.O. 152 U., G.P. 86 U., Protrombina 26" (26%). Biopsia hepática E.V-O.H. Autopsia: E.V-O.H.

10.- H.C. 615290 H.S.J.D. Odontólogo de 42 años a quien por endoscopia se le diagnosticó gastritis, por lo cual decidió tomar gotas de "árnica" durante dos meses, cuando presentó dolor en hipocondrio derecho, sensación de "abombamiento abdominal", pérdida de peso (aproximadamente 10 kilos en los últimos 2 meses) y desde ocho días antes de su ingreso ictericia generalizada.

Al examen físico se encontró un paciente enflaquecido, con tinte ictérico generalizado y ascitis. En el servicio recibió diuréticos y disminuyó la ascitis. La laparoscopia mostró hígado congestivo, con zonas de color pardo oscuro, hipervascularización del ligamento redondo y ascitis. En la gastroscopia se observaron pliegues engrosados, congestivos, con pequeñas ulceraciones superficiales. Continuó los diuréticos después del egreso y murió 8 meses más tarde en coma hepático.

Laboratorio: Hemoglobina 15.0 grs.% Hematocrito 45%, Leucocitos 8.800, Proteínas Totales 5.2 gms. %, Albúmina 3.1 gms.%, Globulina 2.1 gms.%, Bilirrubina Total 2.8 mgrs. %, Directa 2.2 mgrs. %,

Transaminasa G.O. 52 U., G.P. 88 U., Fosfatasa Alcalina 45 U.K.A., Protrombina 13" (77%). Biopsia de hígado compatible con E.V-O.H. Estómago: mucosa gástrica congestiva.

No se practicó autopsia.

11.- H.C. 626273 H.S.J.D. Agricultor de 48 años con antecedentes de ingestión de infusiones de "llantén y árnica", quien tres meses antes de su ingreso presentó dolor en hipocondrio derecho y quince días más tarde ascitis y edema de miembros inferiores: recibió tratamiento a base de diuréticos con discreta mejoría.

Al examen físico se encontró un paciente enflaquecido, icterico, con ascitis y edema de miembros inferiores. La laparoscopia mostró hígado finamente granular con zonas de color pardo oscuro que alternan con zonas congestivas, ligamento redondo hipervascularizado y ascitis. El esofagograma demostró várices esofágicas, y la gastroscopia mucosa gástrica congestiva con pequeñas ulceraciones superficiales.

Dos días antes de morir en coma hepático el paciente presentó vómito abundante, deshidratación y estertores en ambos campos pulmonares.

Laboratorio: Hemoglobina 17.2grs.%, Hematocrito 50%, Leucocitos 4.300, Albúmina 3.9 gms. %, Bilirrubina Total 2.2 mgrs. %, Directa 1.2 mgrs. %, Transaminasas G.O. 58 U., S.G.P. 60 U., Fosfatasa Alcalina 4 U.K.A., Protrombina 17" (40%) Biopsia hepática: Congestión centrolobulillar.

Autopsia 143-72: Ascitis de 2.000 ml, hígado que semeja nuez moscada, pesa 1.250 grs. con cambios histopatológicos de la E.V-O.H.

12.- H.C. 464302 H.S.J.D. Mujer de 32 años, quien dos meses antes de su ingreso presentó amenorrea, por lo cual ingirió infusiones de yerbas entre ellas "árnica"; quince días después presentó dolor en hipocondrio derecho, adinamia y "abombamiento abdominal".

Al examen físico se encontró una paciente enflaquecida con ascitis. Se administraron diuréticos. La laparoscopia mostró hígado congestivo, con zonas de color pardo oscuro, hipervascularización del ligamento redondo y ascitis.

La paciente salió voluntariamente y reingresó a los 14 días con cuadro de aborto incompleto y coma hepático. Se practicó raspado uterino y tratamiento para el coma; quince días más tarde murió en coma hepático.

Laboratorio: Hemoglobina 14 grs.%, Hematocrito 43%, Leucocitos 8.200, Proteínas 4.6 gr. %, Albúmina 3.6 gms.%, Globulina 1.0 gms. %, Bilirrubina Total 0,80 mgrs. %. Biopsia hepática; congestiónlobulillar.

Autopsia 491-72: Ascitis de 4.000 ml El hígado semeja la congestión pasiva crónica, pesa 1.000 grs. y tiene los cambios histopatológicos de la E.V-O.H. (Figura 11).

13.- H.C. 691220 H.S.J.D. Mujer de 32 años, quien ingirió infusión de "árnica" por recomendación de un farmacéutico (6 pocillos) un mes antes de su ingreso y veinte días más tarde sintió dolor en hipocondrio derecho y sensación de "abombamiento abdominal".

El examen físico reveló ictericia de escleras y ascitis. En el servicio presentó múltiples episodios de hematemesis y meLENAS tratados con sonda nasogástrica de Sengstaken-Blackemore y transfusiones.

Debido al gran volumen de ascitis (Figura 9), a pesar del tratamiento diurético, en ocasiones se le dificultaba la respiración y fue necesario practicar paracentesis. El esofagograma reveló várices esofágicas confirmadas por la esofagoscopia, (Figura 10). La laparoscopia mostró hígado con zonas de color pardo oscuro que alternan con otras de color rosado, ascitis y ligamento redondo hipervascularizado. Finalmente presentó hematemesis severa y murió en estado de shock.

Laboratorio: Hemoglobina 11.9 grs. %, Hematocrito 38%, Leucocitos 9.000, Proteínas 4.7 gms. %, Albúmina 2.7 gms.%, Bilirrubina Total 2.67mgrs.%, Directa 1.75 mgrs.%, Transaminasas G.O.52 U.G.P. 34 U., Fosfatas a Alcalina 27 U.K.A., Protrombina 15" (45%). Dos biopsias hepáticas fueron diagnósticas de E.V-O.H.

Autopsia 318-74: Várices esofágicas, ascitis de 8.000 ml. El hígado semeja la congestión pasiva crónica, pesa 1.630grs, y presenta los cambios histopatológicos de la E.V-O.H.

14.- H.C. 705259 H.S.J.D. Mujer de

30 años, dibujante, quien por amenorrea 18 meses antes de su ingreso ingirió durante 4 días un pocilio diario de infusión de "árnica" 12 meses antes durante 9 días un pocilio diario, lo cual repitió por la misma causa y en la misma cantidad 3 meses antes, cuando presentó dolor en hipocondrio derecho, enflaquecimiento, sensación de "abombamiento abdominal" y tinte ictérico.

Dos meses antes de su ingreso, por maniobras abortivas se practicó raspado uterino extrayéndose restos ovulares y al punccionar el fondo de saco de Douglas se obtuvo líquido ascítico. El examen físico además de lo mencionado demostró edema de miembros inferiores.

La laparoscopia mostró hígado aumentado de tamaño, congestivo con zonas de color pardo oscuro, ligamento redondo hipervascularizado y ascitis. La esofago-gastroduodenoscopia fue normal. Al salir del hospital la paciente tiene ascitis, se recomienda continuar el tratamiento con diuréticos. Muere un año más tarde en coma hepático.

Laboratorio: Hemoglobina 15.8 grs.%, Hematocrito 50%, Leucocitos 8.900, Bilirrubina Total 1.53 mgrs.%, Directa 0.93 mgrs.%, Transaminasas G.O. 66 U., GP. 50 U., Fosfatas Alcalina 11 U.K.A., Protrombina 12" (100%). Dos biopsias hepáticas: primera inadecuada; segunda compatible con E.V-O.H.

No se practicó autopsia.

15.- H.C. 708204 H.S.J.D. Hombre de 52 años de edad, vendedor ambulante, con glaucoma para el cual tomó una copa diaria de infusión de "árnica", manzanilla, mejorana y yerbabuena durante 10 meses, presentando dolor en hipocondrio derecho y sensación de "abombamiento abdominal".

Al examen físico se aprecian escleras subictéricas, ascitis y edema maleolar. La laparoscopia reveló un hígado congestivo con zonas de color pardo oscuro que alternaban con otras rosadas y de superficie finamente granular; en la esofago-gastro-duodenoscopia hay várices esofágicas. La gammagrafía (Figura 12) muestra disminución global de captación. El paciente continuó siendo controlado con diuréticos, persistiendo discreto grado de ascitis hasta un año después de su ingreso.

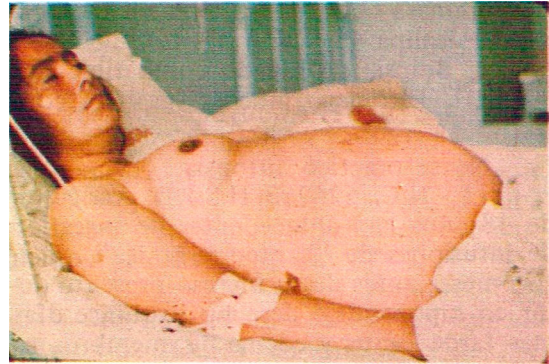


Figura 9.- Caso 13 de E. V-O.H., mujer de 32 años, con gran distensión abdominal debido a la ascitis. Nótese además el estupor.



Figura 10.- Esofagoscopia de la misma paciente de la Figura 9, en la cual se aprecian las várices esofágicas.

Laboratorio: Hemoglobina 17 grs.%, Hematocrito 50%, Leucocitos 5.800, Proteínas Totales 6.8 gms.%, Albúmina 3.4 gms.%, Bilirrubina Total 3.3 mgrs.%, Directa 1.95 mgrs.%, Fosfatasa Alcalina 19 U.K.A., Protrombina 20" (30%). Dos biopsias hepáticas fueron compatibles con E.V-O.H.

16.- H.C. 525750 H.S.J.D. Mujer de 54 años, quien por presentar várices en miembros inferiores tomó 3 pocilios diarios de infusión de "árnica" durante 15 días, después de lo cual presentó dolor en hipo-



Figura 11.-Aspecto macroscópico del hígado que semeja el de la congestión pasiva crónica (Caso 12).

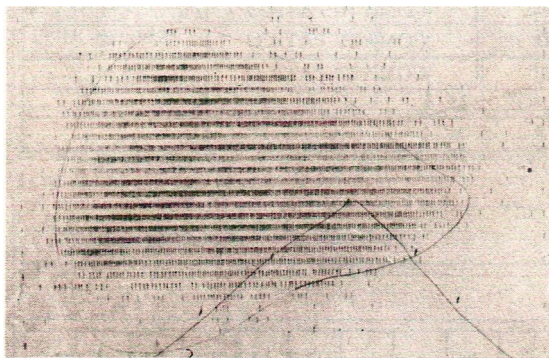


Figura 12.- Gamagrafía hepática que muestra disminución global de la captación. (Caso 15).

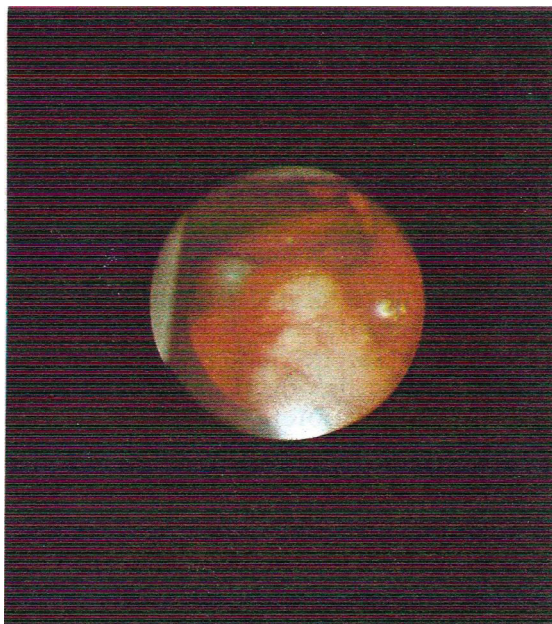


Figura 13.- Laparoscopia que muestra en primer plano un quiste de ovario, al fondo se observa el lóbulo derecho del hígado congestivo y la vesícula de aspecto normal. (Caso 16).

condrio derecho, sensación de "abombamiento abdominal" y tinte icterico generalizado.

El examen físico, además de la ictericia, mostró ascitis. Por laparoscopia se observó hígado aumentado de tamaño, congestivo, de color pardo oscuro que alternaba con zonas de color rosado, ascitis y un quiste pediculado de ovario (Figura 13) el cual posteriormente fue resecado sin complicación. La esofago-gastro-duodenoscopia mostró várices esofágicas y gastritis.

La paciente se encuentra asintomática 5 meses después de su egreso, controlada con diuréticos.

Laboratorio: Hemoglobina 16 grs.%, Hematocrito 50% Leucocitos 6.000, Bilirrubina Total 4.64 mgrs. %, Conjugada 2.74 mgrs. %, Transaminasas G.O. 80 U., G.P. 70 U., Fosfatasa Alcalina 20.5 U.K.A., Protrómbina 13" (80%). Tres biopsias hepáticas: primera insuficiente; segunda compatible con E.V-O.H.; tercera V-O.H.

Resultados

Los 16 casos estudiados de Enfermedad Venoso-Oclusiva del Hígado incluían mujeres y 9 hombres; 1 paciente de dos años, otro de 25 años, 7 con edades entre 30 y 40 años, 3 entre 40 y 50 años y 5 entre 50 y 60 años. En 15 casos se pudo establecer el antecedente de ingestión de "árnica" y en el restante (caso 7) el diagnóstico se hizo en el estudio post-mortem. No se pudo precisar la cantidad exacta, ni el tiempo durante el cual fue ingerido el tóxico. Algunos pacientes manifestaron haber tomado la infusión durante uno o varios años (casos 1 y 6), otros por varios meses (casos 3, 9, 10 y 15) y finalmente otros manifestaron haberlo tomado en cantidad variable en un lapso inferior a un mes (casos 5, 12, 13, 14 y 16); en los restantes no fue posible establecer el tiempo de ingestión del "árnica" (Tabla 5).

En la Tabla 6 se observa que el principal motivo de consulta fue la ascitis, manifestada como una sensación de "abombamiento o distensión abdominal" presente en todos los casos y en segundo lugar el dolor en hipocondrio derecho en 14 pacientes (88%).

Tabla 5. Enfermedad Venó-Oclusiva del hígado.

CASO No.	T. INGESTION ARNICA	INICIACION SINTOMAS	EVOLUCION	CAUSA DE MUERTE	TIEMPO TOTAL ENFERMEDAD
1	AÑOS	15 D.	52 D.	COMA HEPATICO	67 D.
2		20 D.	34 D.	COMA HEPATICO	54 D.
3	MESES	22 D.	9 D.	COMA HEPATICO	31 D.
4			60 D.	COMA HEPATICO	
5	15. D.	7 D.	7 D.	COMA HEPATICO	14 D.
6	AÑOS		24 M.	I. C. C.	
7		15 D.	62 D.	MENINGOENCEFALITIS	77 D
8	5 A.	3 M.	MEJORIA		
9	2 M.	6 D.	5 D.	COMA HEPATICO	11 D.
10	2 M.	2 M.	8 M.	COMA HEPATICO	10 M.
11		3 M.	40 D.	COMA HEPATICO	4 M.
12	-DE 1 MES	45 D.	81 D.	COMA HEPATICO	4 M.
13	6 D.	10 D.	107 D.	COMA HEPATICO	4 M.
14	12 D.	3 M.	12 M.	COMA HEPATICO	15 M.
15	10 M.	10 M.	CONTROL 12 M.		
16	15 D.	15 D.	CONTROL 5 M.		

NOTA A: AÑOS
 D: DIAS
 M: MESES

Tabla 6. Enfermedad Venó -Oclusiva delHígado-.Cuadro Clínico.

No. DE CASOS	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
SEXO	M	F	M	M	M	F	M	F	M	M	M	F	F	F	M	F
ASCITIS	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
DOLOR HIPOCONDRIODERECHO	+	+		+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
ICTERICIA	+	+	+	+	-	-	-	+	-	+	+	-	+	+	+	+
EDEMA	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	+	-

Al exámen físico se encontró ictericia en el transcurso de la enfermedad en 11 pacientes (68%) y edema de miembros inferiores en 4(25%). Trece pacientes (81%) murieron, de éstos once (68%) lo hicieron en coma hepático, una en insuficiencia cardíaca congestiva (caso 6) y otro con meningoencefalitis purulenta y bronconeumonía (caso 7).

Además en los casos 3,5 y 13 se presentó hemorragia digestiva que posiblemente influyó en la causa de la muerte. Tres pacientes fueron dados de alta por mejoría, dos de los cuales continúan bajo control médico y tratamiento con diuréticos (casos 1 5 y 16), 1 año y 5 meses respectivamente.

Desde el punto de vista de laboratorio se encontró discreto grado de anemia al ingreso en 5 pacientes, en 3 de ellos relacionada con hemorragia de vías digestivas altas. Se encontró un descenso moderado en las cifras totales de proteínas en once pacientes (Tabla 7), en cuatro cifras normales y en uno no fue consignado el dato.

En 6 pacientes estaba prolongado el tiempo de protrombina en 3 normal y en los restantes no se estableció.

Las transaminasas se encontraron discretamente elevadas en los 10 casos en que se valoraron; igualmente estuvieron elevadas

Tabla 7 Enfermedad Venoso-Oclusiva del hígado: Exámenes paraclínicos.

No. DE CASOS	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
PROTEINAS	↓	↓	↓	—	↓		↓	—	↓	↓	↓	↓	↓	↓	—	—
PROTROMBINA					—			↓	↓	—	↓	↓	↓	—	↓	—
TRANSAMINASAS	↑							↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑
BILIRRUBINA	↑	↑	↑	↑			—	↑	—	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑
F. ALCALINA	↑		↑	↑						↑	—	↑	↑	—	↑	↑
VARICES ESOFAGICAS - Rx	+		+							—	+		+	—	—	—
VARICES ESOFAGICAS ENDOSCOPIA				+							+		+	—	+	+
LAPAROSCOPIA								+		+	+	+	+	+	+	+

Tabla 8- Resultado de 21 Biopsias hepáticas practicadas en 13 de los 16 casos de E. V- O.H.

No. CASOS	No. BIOPSIAS	DIAGNOSTICO HISTOPATOLOGICO
1	1	COMPATIBLE CON CIRROSIS
2		
3		
4	2	AMBAS COMPATIBLES CON E.V-O.H.
5	2	1o. DILATACION VENOSA CENTROLOBULILLAR 2o. COMPATIBLE CON E.V -O.H.
6		
7	1	COMPATIBLE CON CIRROSIS (B.SUPCAPSULAR)
8	2	1o. COMPATIBLE CON CIRROSIS 2o. E.V -O.H.
9	1	E.V -O.H.
10	1	COMPATIBLE CON E.V -O.H.
11	1	CONGESTION CENTROLOBULILLAR
12	1	CONGESTION CENTROLOBULILLAR
13	2	1o. E.V -O.H. 2o. E.V -O.H.
14	2	1o. B. INADECUADA 2o. COMPATIBLE CON E.V -O.H.
15	2	AMBAS COMPATIBLES CON E.V -O.H.
16	3	1o. B. INADECUADA 2o. COMPATIBLE CON E.V -O.H. 3o. E.V-O.H.

y las cifras totales de bilirrubina, fundamentalmente a expensas de la conjugada, en 12 de los 14 casos. La fosfatasa alcalina mostró aumento en 8 de 10 casos en que fue cuantificada.

En 8 pacientes se pudo practicar estudio radiológico del esófago, cuatro de los cuales presentaron imágenes compatibles con várices esofágicas. En seis casos se practicó esofagoscopia y 5 de ellos presentaron várices esofágicas.

Finalmente se practicaron ocho laparoscopias en las cuales se encontró hipervascularización del ligamento redondo, ascitis, hígado de aspecto congestivo con zonas de color pardo oscuro y superficie hepática finamente granular en dos casos y nodular en otro.

En la Tabla 8 consignamos los resultados de un total de 21 biopsias hepáticas practicadas en 13 pacientes. En uno de ellos la biopsia fue inadecuada (subcapsular) y compatible con cirrosis; en 9 (75%) de los 12 restantes se confirmó el diagnóstico de E.V-O.H., en 2 se encontró congestión centrolobulillar y en 1 cirrosis. En el caso No5 la E.V-OH, evolucionó hacia la cirrosis lo cual fue confirmado en otra biopsia.

La ventaja de la muestra obtenida por laparoscopia en comparación con la tomada con aguja es obvia, por permitir la observación macroscópica del hígado, la selección del área, mejor calidad y mayor volumen de la muestra que además puede ser múltiple.

Un 75% de positividad en el análisis de la biopsia hepática es un resultado que nos lleva a la conclusión de que este estudio es un excelente auxiliar en el diagnóstico de la E.V-O.H., entidad que hasta hace poco más de una década no encontrábamos en nuestro país; sin omitir subrayar una vez más que para su correcta interpretación es de mucha ayuda pensar en esta enfermedad toda vez que estemos frente al caso de un paciente con hipertensión portal.

En el estudio post-mortem el diagnóstico de E.V-O.H. no ofrece dificultades al microscopio de luz; a esta conclusión llegamos después de procesar 11 necropsias. El

aspecto macroscópico semeja la congestión pasiva crónica (Figura 11) que algunas veces pudo ser observada macroscópicamente en la biopsia (Figura 14). Solo un paciente tenía cirrosis (Figura 15).

El peso del hígado fue en general subnormal y lo hemos anotado en el resumen de cada historia clínica; el peso promedio en 9 de las 11 necropsias fue de 1.258 grs.

Nuestros hallazgos microscópicos en este grupo humano podemos resumirlos como sigue: Congestión centrolobulillar en todos los casos y necrosis centrolobulillar en el 80%. El cambio principal, y definitivo para el diagnóstico, es el engrosamiento subintimal de las venas centrolobulillares (Figuras 16-21) y en la mitad de los casos un cambio semejante, a veces de menor grado, en las venas sublobulillares (Figuras 22-24). Aproximadamente en la mitad de las necropsias existe engrosamiento de los canalículos biliares (Figura 25).



Figura 14.- Aspecto macroscópico que semeja la congestión pasiva crónica en biopsia obtenida con aguja de Menghini. (Caso 16).

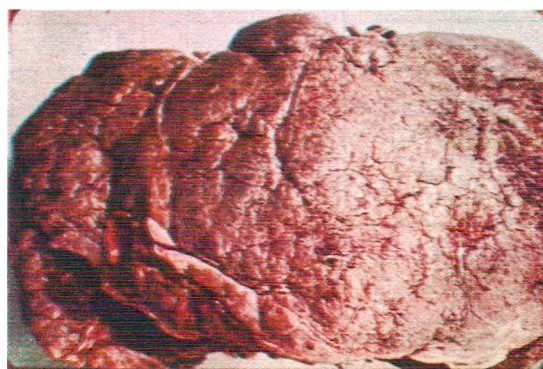


Figura 15.- Cirrosis hepática en E. V-O.H. (Caso 6).

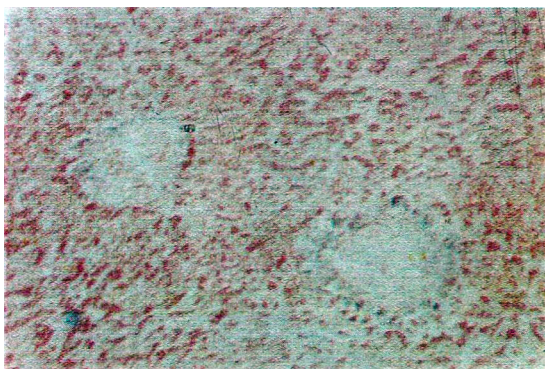


Figura 16.- Venas centrolobulillares con edema subintimal e incipiente proliferación de tejido fibroso en su periferia. Tricromo de Masson, 100 x Aprox.

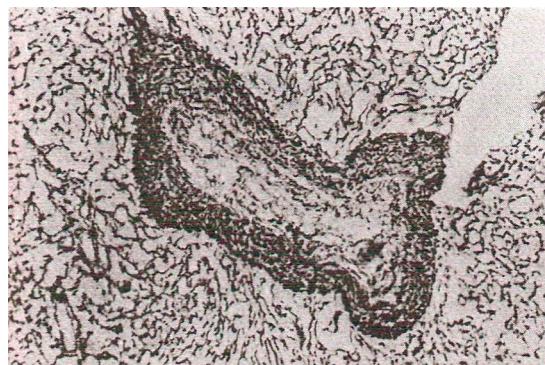


Figura 19.- Vena centrolobulillar con abolición total de la luz. Se reconocen bien múltiples y pequeñas fibras de reticulina en el material subintimal. Tinción para retículo, 250 x Aprox.

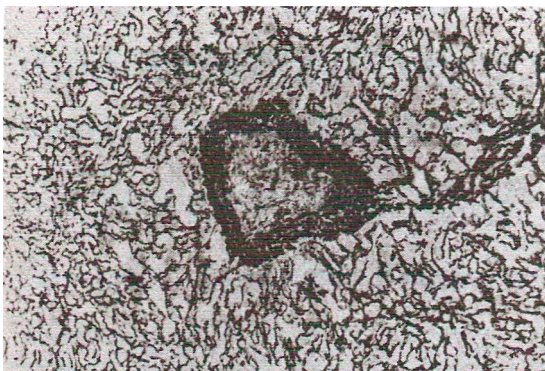


Figura 17.- Vena centrolobulillar con abolición total de la luz por edema subintimal. Nótese la presencia de minúsculas fibras de reticulina también bajo la íntima. Tinción para retículo, 250 x Aprox.

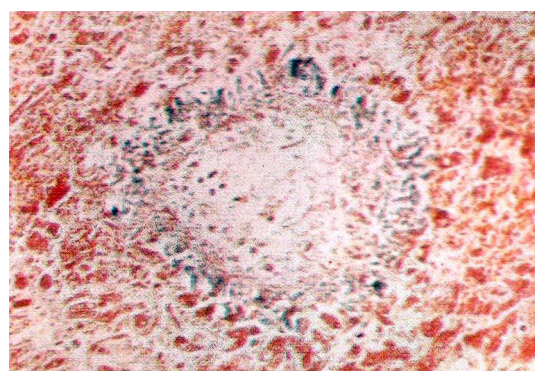


Figura 20.-La oclusión de esta vena centrolobulillar es casi total y unas pocas células redondas y macrófagos aparecen en el material subintimal. Es obvia la fibrosis en la periferia de la vena. Caso sub-agudo de E. V-O.H. Tricromo de Masson, 400 x Aprox.

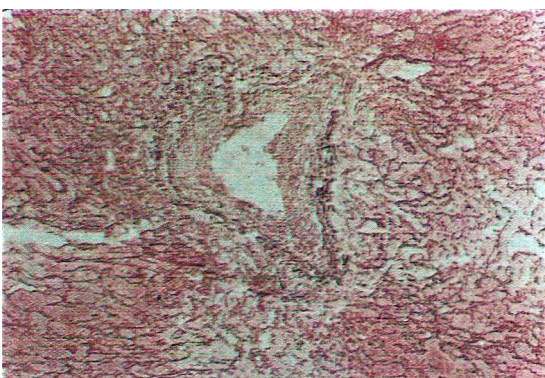


Figura 18.- Oclusión parcial de una vena centrolobulillar en un caso sub-agudo de E. V-O. H. Tinción para retículo, 250 x Aprox.

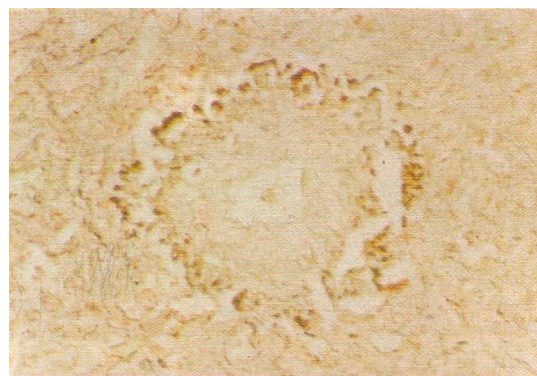


Figura 21.- Vena centrolobulillar de características muy similares a las de la Figura 20 en tinción para retículo, 400 x Aprox.



Figura 22.- Vena sublobulillar casi totalmente ocluida. El retículo forma un verdadero anillo periférico y no se ve en el material subintimal. Caso agudo de E. V-O.H. Tinción para retículo, 400 x Aprox.

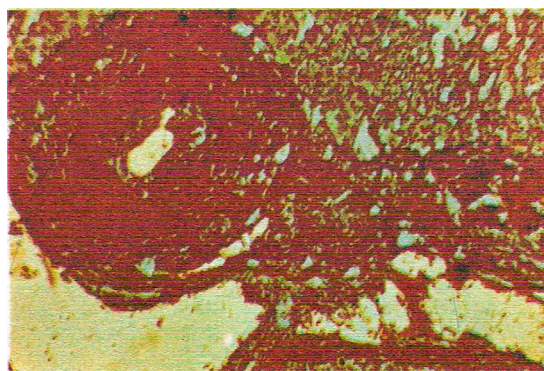


Figura 25.- Aumento notorio del espesor de la pared de un canaliculo biliar. Tinción para retículo, 400 x Aprox.

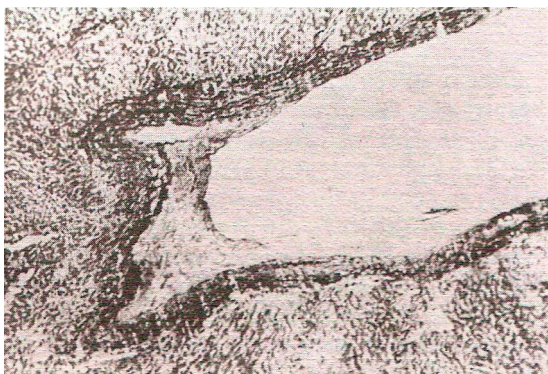


Figura 23.- El depósito del material subintimal es segmentario en esta vena sublobular. Tinción para retículo, 250 x Aprox.

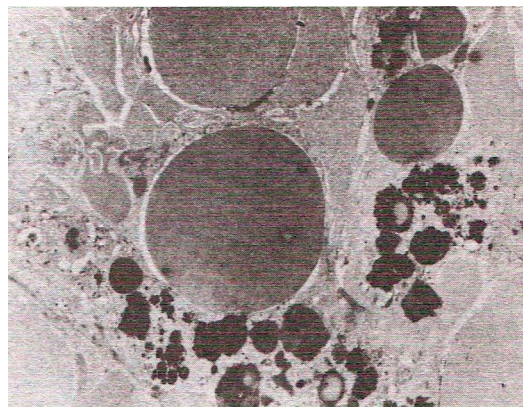


Figura 26.- Zona de trombo; abundantes eritrocitos y segmentos de células degeneradas con lisosomas. 4.600x.

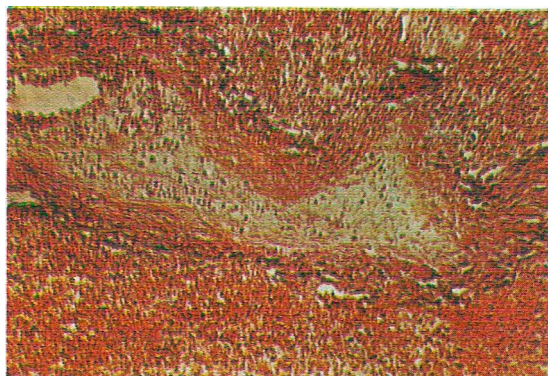


Figura 24.- La oclusión de esta vena sublobulillar es casi total. En el material subintimal se observan algunas células redondas. Caso sub-agudo de E. V-O.H. Tinción para retículo, 250 x Aprox.

**ULTRAESTRUCTURA DE LAS
LESIONES HEPATICAS PRODUCIDAS
POR EL SENEIO FORMOSUS
EN EL HOMBRE**

El análisis de ultraestructura en las siete biopsias de pacientes con E.V-O.H. mostró alteración del hepatocito y de la célula endotelial con formación de trombos (Figuras 26-28); la alteración hepatocelular consistió en proliferación del retículo endoplásmico liso (Figura 29), numerosos lisosomas con material osmofílico electrón-denso (Figuras 30 y 31), bolsillos intranucleares con estructura morfológica de triglicéridos (Figura 31). daños mitocondriales caracterizados por aumento de su densidad y presencia de figuras de tipo cuerpo mielínico en su interior. (Figuras 32 y 33).

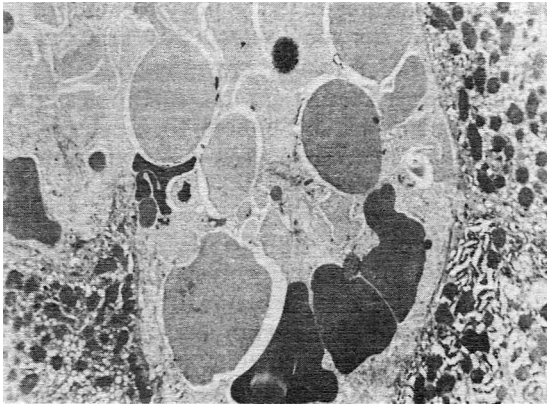


Figura 27.- Zona de trombo; eritrocitos y fibrina, desaparición de los espacios de Dissé y aplanamiento de la superficie del hepatocito relacionada con aquel. Las mitocondrias de los hepatocitos son muy densas y el retículo endoplásmico está dilatado. 3.200 x.

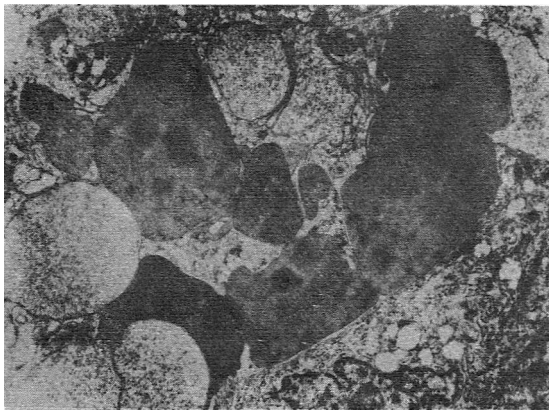


Figura 28.- Zona de trombo; eritrocitos y segmentos de células degeneradas. Hacia la parte superior se observa una célula endotelial con vesículas y vacuolas voluminosas. 4.450 x.

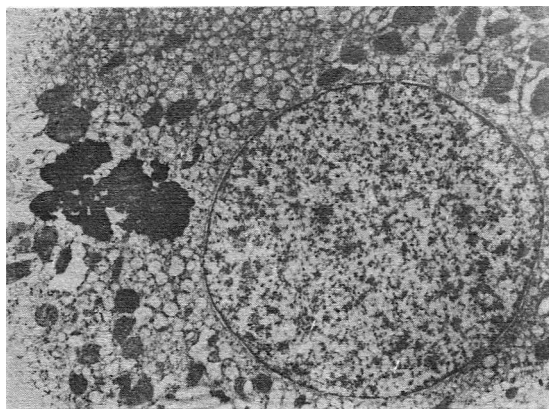


Figura 29.- Hepatocito con cambio mitocondrial, similar al descrito, lisosomas densos. 4.300 x.

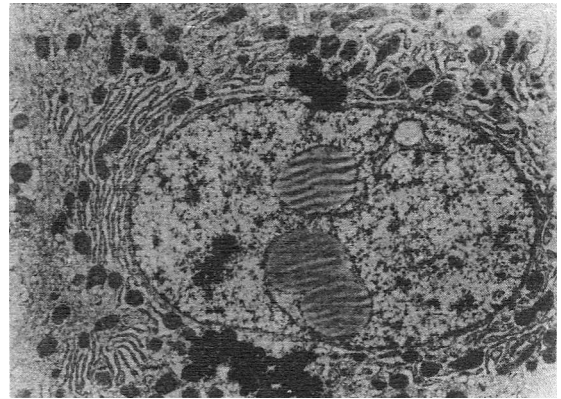


Figura 30.- Núcleo de hepatocitos con bolsillos citoplasmáticos intranucleares. 4.535 x.



Figura 31.- Hepatocitos con abundante lipofuscin y cuerpos densos de aspecto lisosómico. 3.700 x.

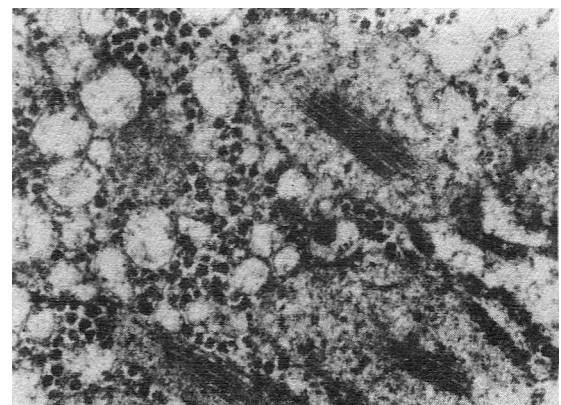


Figura 32.- Se observan mitocondrias con figuras de tipo mielínico paralelas al eje mayor del organito, el cual muestra disminución de las crestas. 33.000 x.

Un hallazgo común fue la presencia de depósitos de glucógeno, en ocasiones muy densos, distribuidos en forma anárquica en el citoplasma o a lo largo de las paredes del retículo endoplásmico rugoso (Figuras 34 - 36). Las células endoteliales mostraron diversos grados de degeneración, caracterizados por citoplasma y núcleos densos, también se apreció destrucción de la membrana nuclear en las células de Kupffer con abundantes lisosomas muy densos a los electrones.

DISCUSION

Después de casi un siglo de conocerse la acción tóxica para el hígado de plantas

del género *Senecio* (9) y posteriormente identificarse sus alcaloides (26) como causantes de dicha acción, creímos conveniente estudiar e identificar las sustancias que se encuentran en el *Senecio formosus*, para luego demostrar su acción por experimentación en animales.

A partir del trabajo de Löefgren en 1.897 (27) multitud de investigaciones han sido realizadas con el propósito de identificar las principales sustancias químicas de un gran número de especies escogidas entre las 1.300 que comprende el género *Senecio* (28-52) y al mismo tiempo probar su acción farmacológica y sus efectos tóxicos en diferentes especies animales.

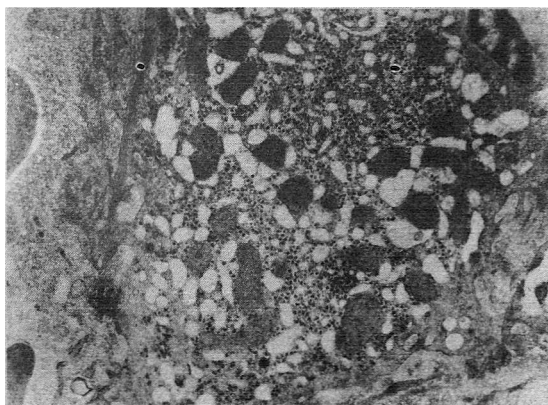


Figura 33.- Hepatocitos con abundante glucógeno disperso en el citoplasma. Se observan mitocondrias muy densas. El borde citoplasmático sinusoidal muestra aplanamiento y disminución de las microvellocidades lo cual conlleva una pérdida de la función del espacio de Dissé. 8.900x.

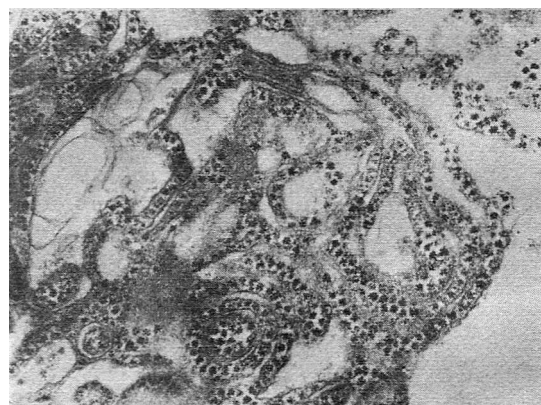


Figura 35.- Depósitos de glucógeno relacionados con membranas del retículo endoplásmico liso. 24.000 x.

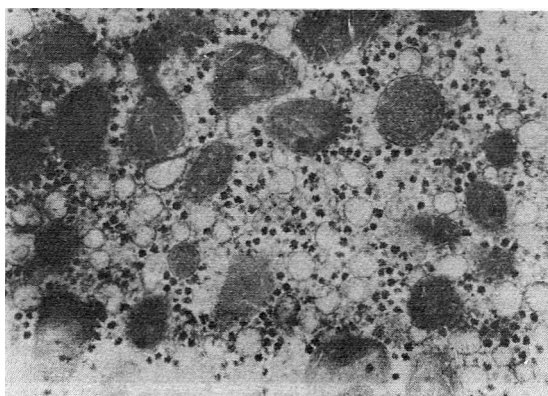


Figura 34.- Mitocondrias densas una de ellas con inclusión paracristalina; el glucógeno es abundante. 24.000 x.

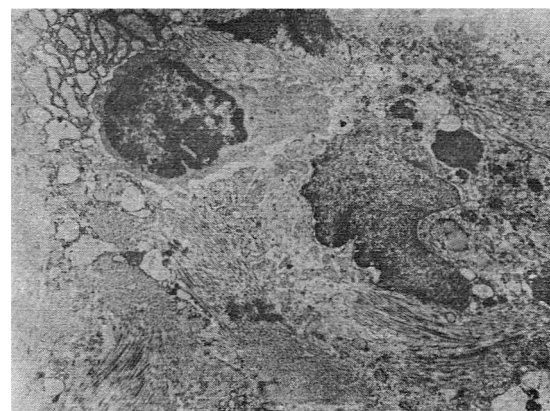
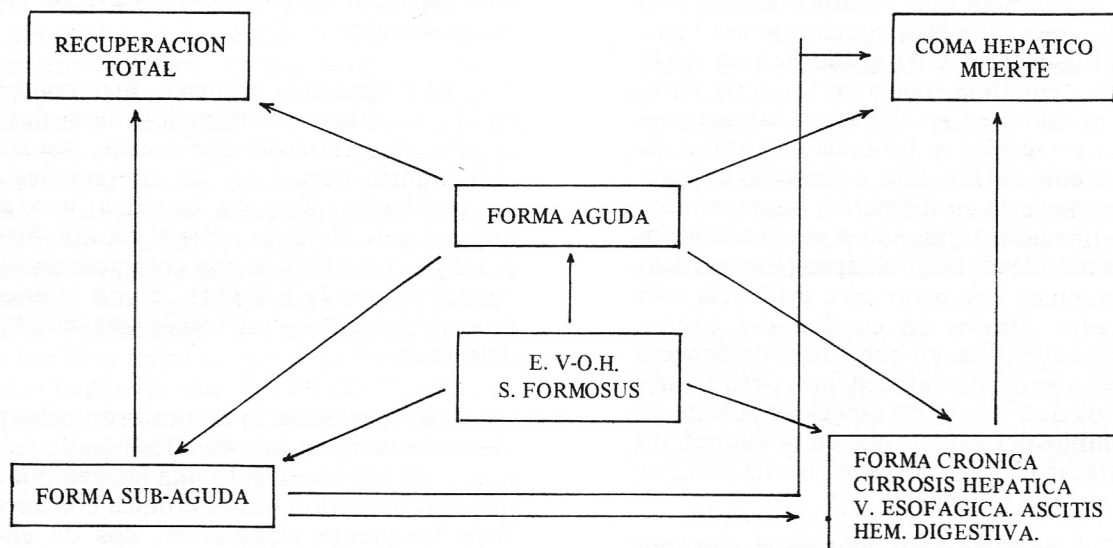


Figura 36.- Célula de Kupffer con destrucción de la membrana nuclear y de membranas citoplasmáticas. 4.300 x.



Gráfica 4.- EVOLUCION DE LA E.V-O.H.

No obstante esta voluminosa y bien documentada literatura, este esquema de estudio no había sido realizado para el *Senecio formosus*, por lo cual queremos apenas mencionar que los experimentos que llevamos a cabo utilizando la cromatografía decapa fina, demostraron estrecha similitud entre el *Senecio formosus* y las otras especies del mismo género en las cuales el principal alcaloide es la Retrorsina identificada desde 1.931 por Manske (48); con este mismo método, en nuestro estudio (Tabla 3) se pudieron demostrar en menor concentración otros seis alcaloides.

Se demostró, antes de proceder a ensayar su acción farmacológica, que la base química responsable directa de la acción hepatóxica, los ásteres de las 1-Hidroximetil-1:2-dehidro-7 hidroxipirrolizidinas con ácidos hidroxilados o insaturados, estaba presente en esta planta. Es valioso para los anales de la química el hecho de que la estructura del anillo pirrolizidínico se conoció cuando su presencia fue descubierta en los alcaloides del *Senecio* (8).

Es de anotar la ausencia de una variación significativa en la concentración de los componentes químicos en relación con las

diferentes épocas del año en que fue recolectado el material.

La enfermedad veno-oclusiva del hígado se ha podido reproducir experimentalmente con alcaloides de diferentes especies del género *Senecio* y en diversas especies animales entre ellas, roedores, bovinos, equinos, porcinos y caprinos (53-85)

Siendo la base química de la acción tóxica de los *Senecios* esencialmente igual podría ocurrir que la variación en las descripciones que se nota con frecuencia en la literatura (10, 12, 61-63, 65, 71, 75, 78, 80, 85 - 92), obedezca más al factor subjetivo de la interpretación que al cambio microscópico en sí.

En la casi totalidad de los trabajos se hace énfasis sobre el hallazgo de megalocitosis o sea hiperplasia como fenómeno reparativo y en otros cambios celulares, específicamente degeneración y necrosis de hepatocitos (54, 61, 67, 86, 90, 91).

Nosotros logramos producir las máximas lesiones del hígado administrando por vía oral los alcaloides de las hojas del *Senecio formosus*, pero aún en estos animales una alteración hepatocelular grave fue excepcional y el número de células afectadas morfo-

lógicamente no superó nunca el 1 - 2% (Figura 8). Nuestra observación básica, a más de la estenosis de las pequeñas venas hepáticas (Figuras 2,3 y 4), se localizó en las fibras de reticulina, tanto en las de la pared vascular como en las del área contigua perivenosa y también a distancia alcanzando la parte media del lobulillo y consistió en cambios bruscos de su diámetro, fragmentación y aglutinación, formando a veces acúmulos y causando desde luego colapso (Figuras 5,6). No podemos comparar esta evidencia con resultados previos en condiciones experimentales idénticas ya que a base de *Senecio formosus* no existe antecedente, pero sí subrayamos que con otras especies del *Senecio* los cambios del retículo que en ocasiones no se destacan (55, 61, 90) son enfatizados por otros autores (54,86).

También ha sido motivo de estudio (86) el engrosamiento de la pared de los ductos biliares (Figura 7), que con intensidad variable observamos en la cuarta parte de los animales que recibieron por vía oral el alcaloide. La colestasis, poco frecuente, suele ser mínima y lo mismo sucede con la metamorfosis grasa. Con el microscopio de luz no encontramos microtrombosis bien definida como lesión primaria. Finalmente queremos hacer constar que las lesiones causadas por el *Senecio formosus* tienen estrecha semejanza en el ratón y el hombre.

En 15 de los 16 pacientes con enfermedad veno-oclusiva del hígado se puso en evidencia el antecedente de ingestión de *Senecio formosus* (árnica) sin que al parecer hubiese relación estrecha entre el curso de la enfermedad y la cantidad del tóxico ingerido; lo cual está de acuerdo con el conocimiento que tenemos de personas que han ingerido infusiones de esta planta y no han desarrollado la E.V-O.H. En la tabla 9 se aprecia que pacientes que tomaron el tóxico por seis, doce y quince días, evolucionaron hacia la muerte mientras pacientes como el octavo y el decimoquinto, que manifestaron haberlo tomado por varios meses, llegaron a la fase crónica. El último ha sido controlado desde el punto de vista clínico y de laboratorio durante un año".

La causa por la cual ingirieron el tóxico no siempre se pudo establecer, en dos casos

fue para provocar el aborto, en tres por gastritis, glaucoma y síndrome y varicoso respectivamente.

El diagnóstico clínico se hizo con base en el antecedente de ingestión de árnica, el cuadro caracterizado por ascitis, dolor en hipocondrio derecho y las alteraciones en las pruebas de función hepática; pero sin duda el dato definitivo fue el estudio histopatológico del hígado con coloraciones adecuadas ya que la E.V-O.H., como lo anotamos, tiene cambios microscópicos muy bien definidos.

La laparoscopia practicada en ocho pacientes mostró en uno de ellos hígado cirrótico y en los otros siete una imagen que semejaba congestión pasiva crónica con superficie finamente granular en dos de ellos. Queremos destacar la importancia de este procedimiento que no había sido descrito antes en esta enfermedad y que nos orientó hacia ella por su aspecto casi inconfundible, dándonos además información sobre el estado de evolución del daño hepático y permitiendo tomar biopsia bajo visión directa de la zona que consideramos más afectada. Otro examen endoscópico de valor fue la esofagoscopia ya que desde el punto de vista radiológico no siempre es fácil demostrar la presencia de várices esofágicas en pacientes con ascitis y en mal estado general, condiciones que podrían explicar la mayor efectividad del procedimiento endoscópico.

En la Gráfica 4 vemos la evolución clínica habitual de la E.V-O.H. Once de nuestros pacientes (68%) ingresaron en la fase aguda que se caracteriza por rápido desarrollo de la ascitis, dolor abdominal y en ocasiones edema de miembros inferiores. Nueve de éstos (82%), fallecieron en coma hepático, uno por infección y el otro pasó a la forma crónica.

Tres pacientes (19%) fueron clasificados como sub-agudos y sus síntomas se desarrollaron, progresivamente, predominando la ascitis y un discreto grado de insuficiencia hepática. De estos pacientes dos pasaron a la forma crónica y uno murió en coma hepático cuarenta días después de su ingreso.

Finalmente en la fase crónica se incluyeron dos pacientes (12.5%) con cuadro clínico similar al producido por otros tipos de cirrosis hepática, en los cuales el diagnóstico se orientó hacia la E.V-O.H. por el antecedente de ingestión de árnica y se confirmó por el estudio histopatológico. La laparoscopia en uno de estos casos mostró hígado nodular, en el otro hígado finamente granular y la esofagoscopia várices esofágicas. El primer paciente fue controlado durante dos años y el segundo continúa en control desde hace un año. No encontramos relación entre las pruebas de funcionamiento hepático, que fueron practicadas en forma seriada durante el tiempo de hospitalización y en los controles por consulta externa, y la evolución y pronóstico de la enfermedad.

Mientras en general se considera a la E.V-O.H. como patrimonio de la niñez (93-98) 15 de los 16 pacientes (94%) que estamos analizando fueron adultos, lo cual tiene semejanza con lo descrito por Parker (99).

En dos pacientes se practicaron estudios inmunológicos para buscar anticuerpos antinucleares en las biopsias hepáticas con resultados negativos.

El tratamiento inicialmente se basó en el control de la ascitis cuantificando en forma periódica el balance hidroelectrolítico. En los pacientes con hemorragia digestiva se investigó la causa y se trató con transfusiones de sangre total, succión nasogástrica y en un caso con sonda de Sengstaken-Blackemore. Para el coma hepático se administraron neomicina o sulfas no absorbibles por vía oral, enemas evacuadoras, laxantes, líquidos parenterales y se hizo control hidroelectrolítico estricto; se observaron mejorías transitorias pero sin que se variara el curso fatal de la enfermedad.

En el caso décimotercero en la fase aguda, previo estudio hematológico, se administraron inmunosupresores y en otros corticosteroides, en forma esporádica, sin alteración en el curso de la enfermedad ni en el resultado de los estudios histopatológicos del hígado.

Descontando la alta frecuencia de cirrosis que la E.V-O.H. produce en Jamaica, hasta el punto de que entre 77 cirróticos 23 tenían esta etiología (100), y haciendo abstracción de los hallazgos que obtuvimos en estudios endoscópicos por no haber sido objeto de investigaciones previas, concluimos que nuestros casos no se apartan de los cánones clásicos ni clínicamente, ni por las alteraciones que presentan en su función hepática (86,99-102).

Estamos convencidos de que utilizando el esquema de estudio delineado en este trabajo la E.V-O.H. consecutiva a la ingestión de infusiones de *Senecio formosus* puede en todos los casos ser diagnosticada.

El material responsable de la oclusión venosa es homogéneo pero tiñe muy débilmente con la coloración de Hematoxilina—Eosina, hasta el punto de que en base a esta técnica el diagnóstico puede sospecharse, pero en ningún caso es concluyente. La tinción para retículo es la más útil y la de Tricromo de Masson ofrece alguna ayuda. A medida que avanza el proceso es más fácil reconocer las pequeñas fibras de reticulina en medio del material grumoso subintimal que ocluye la luz; este hallazgo ya lo habían anotado entre otros Stirling, Bras y Urquhart (103) y no contradice la demostración hecha por ellos mismos con técnicas de fluorescencia, que define el material subintimal como fibrina.

No se ha aclarado hasta el momento y no tenemos una buena sugerencia acerca del mecanismo íntimo de la oclusión venosa, el cual no parece muy condicionado por la dosis ni por la duración de la exposición al tóxico.

Dos factores que se han citado son el espasmo, que no es visible en el microscopio y la trombosis que no identificamos con el microscopio de luz y que sin duda requiere posterior valoración, dadas las pocas observaciones que existen desde el punto de vista de su ultraestructura.

Sobre el particular Hill, Rhodes, Stafford y Abu plantearon inquietudes cuando

denominaron a esta entidad hepatitis serosa en 1.953 (93). No hacemos referencia, por haber sido analizadas antes, a las propiedades hepatotóxicas que tienen los ésteres de las 1- hidroximetil -1-2 dehidro - 7 hidroxil - pirrolizidinas.

En cuanto a la cronología, Allen, Carstens y Olson notaron sincronismo entre la aparición del daño vascular y las alteraciones parenquimatosas en su trabajo experimental en *Macaca speciosa* (54). Tal vez Hill (86) sea en nuestra revisión bibliográfica quien mayor énfasis ha hecho al referirse a la hiperplasia ductal en material experimental. Selzer y Parker (104) y después Leger (105) analizaron previamente la posible relación y semejanza entre E.V.-O.H. y síndrome de Budd-Chiari; nuestros otros hallazgos patológicos en hígado concuerdan plenamente con descripciones previas (106-109).

Ninguno de nuestros casos presenta veno-oclusión en otro órgano diferente al hígado, habiendo revisado con especial atención el pulmón en todas las necropsias buscando alguna coexistencia entre ésta y la entidad que Heath describió en 1.966 como enfermedad veno-oclusiva pulmonar (110).

Los hallazgos de ultraestructura tienen similitud con los descritos por Brooks y col. (2) a excepción de que ellos no mencionan los fenómenos trombóticos que ilustramos en algunas de nuestras electromicrografías. La lesión de las células endoteliales es muy prominente y consiste en un aumento de las pequeñas fenestraciones que comunican los espacios sinusoidales con los espacios de Dissé; no podemos valorar la importancia de este cambio en relación con la aparición del trombo. Los depósitos de glucógeno están presentes en todos nuestros casos. Las lesiones mitocondriales, como se sabe, frecuentes y muy poco específicas en patología hepática, han sido descritas anteriormente en E.V.-O.H. (2) y pudimos reconocerlas con facilidad. Comparando los resultados de los trabajos de Putzke y col. (111), de Allen, Carstens y Olson en *Macaca speciosa* (54), de Aizelius y Schoental en ratas (53) y de Bras, Berry y Gyorgy en ternera (55), hemos de aceptar, que existen

estrechas semejanzas de la imagen ultraestructural del animal experimental y el hombre, en la enfermedad veno-oclusiva del hígado en el hombre.

Es de interés la disminución de las microvelocidades de los hepatocitos que dan sobre el espacio de Dissé, con la reducción de esta zona e inclusive aplanamiento y casi obliteración de la misma. Como este espacio es una zona abierta de intercambio sangre- hepatocito, su disminución debe acarrear dificultad en este mecanismo fisiológico, el cual tal vez trata de compensarse con un aumento de las fenestraciones endoteliales.

SUMMARY

A phytochemical study of the *Senecio formosus* plant, "árnica", was done and it was found that retrorsine constitutes 50% of the 7 alkaloids that it contains.

The chemical base of this alkaloids belongs to the ester group of 1-hydroxime - thy 1-1: 2-dehydro-7 hidroxypirrolizidine and is directly responsible for the hepatotoxic action of this plant.

The experimental pharmacologic study practiced on mice showed that the maximal lesions were due to the alkaloids of leaves given by mouth; the lesions in the experimental animal were sensibly comparable to those observed in 21 human biopsies and 11 autopsies. This in the first experiment realized in animals with *Senecio formosus*. The laboratory and clinical studies as well as the histopathologic changes by light microscopy establish a full coincidence between our 16 Colombian cases and the series previously described.

Endoscopic studies are important each time a veno-occlusive disease of the liver is suspected after ingestion of árnica infusions.

This is the second opportunity in which the ultrastructure of the hepatic alterations produced in man by *Senecio formosus* has been fully investigated. It can be established

that these changes are closely comparable to those obtained experimentally indifferent animal species.

BIBLIOGRAFIA

- 1.- Vélez, M., Toro, G., Amaya, L., Llórente, M., Cadenas, D., y Restrepo, C.: Enfermedad Veno-Oclusiva del hígado. Estudio de 9 casos. Revisión del Tema Trib. Med. (Colombia) VII: 1-21, 1.968.
- 2.- Brooks, S.E.H., Miller, C.G., McKenzie, K. Audretsch, J.J., and Bras, G.: Acute Veno-Occlusive Disease of the liver, fine Structure in Jamaican Children. Arch. Path. 89:507-520, 1.970.
- 3.- Wall, M.E.: J. Am. Pharm. Ass., 43:1, 1.954, según Calderón, E.: Guía para el análisis de Plantas y Notas Prácticas sobre Fitoquímica. Conferencias Departamento de Farmacia, Universidad Nacional de Colombia, 13, 1.963.
- 4.- Floriani, L.: Análisis Químico de los Vegetales, Editorial Vázquez, Buenos Aires, P- 59, 1.938.
- 5.- Calderón, E.: Guía para el análisis de plantas y notas prácticas sobre fitoquímica. Conferencias Departamento de Farmacia, Universidad Nacional de Colombia, 38, 1.963.
- 6.- Noveli, A., de Varela, A.: Alcaloides de Senecio en Argentina; Senecio brasiliensis. Anales Assoc. Quirn. Argentina, 33:176, 1.945.
- 7.- Motidome, M., Carvalho, P.: Alcaloides do Senecio Brasilensis Less. Fac. Farm. Bioquim. S. Paulo, 4: 13-44, 1966.
- 8.- Moraes, E. De C.F.: Contribuyo ao Estudo Químico-Toxicológico Do Senecio Brasiliensis Less., Tesis de Libre Docencia, Fac. de Farm. Odont.Univ. S. Paulo, 49, 1.951.
- 9.- Osler, W.M.: Report on Pictou Disease Investigation. Veterinarian, 56:478, 1.883.
- 10.- Chase, W.H. The Molteno Gattle Disease, Arg. 25: 675, 1.904.
- 11.- Watt, H.E.: Alkaloid of Senecio latifolius, J. Chem. Soc. 95:466, 1.909.
- 12.- Cushmy, A.R.: On the action of Senecio alkaloids and the causation of the hepatic cirrhosis of cattle, Pharm. 2:531, 1.910-11.
- 13.- Wilmot, F.C. and Robertson, G.M.: Senecio Disease or cirrhosis of the liver caused by Senecio poisoning. Lancet 2: 848, 1.920.
- 14.- Steyn, D. G.: The toxicology of plants in South Africa, Central News Agency, South Africa, 1.934.
- 15.- Mohabat, O., Younos, M.S., Merzadi, A.A., Srivastava, R.N., Sedig, G. G., Aram, G.M.: An outbreak of hepatic Venocclusive disease in North-western Afghanistan. Lancet 2:269-271, 1.976.
- 16.- Tandon, B.N., Tandon, H.D., Tandon. R.K., Narn-dranathan, M., Joshi, Y.K.: An epidemic of veno-occlusive disease of livers in Central india. Lancet 2: 271-272, 1.976.
- 17.- Dias Da Silva, R.A.: Farmacopeia dos Estados Unidos do Brasil. Sao Paulo, 884, 1.926
- 18.- Rocha e Silva: O problema das plantas tóxicas no Estado de Sao Paulo, o Biológico, 6:59 e 254, 1.940.
- 19.- Moraes Melo, E.M. e Sampaio Fernandes, J.: Contribuyo ao estudo das plantas tóxicas brasileiras. Min. Agr. R. Jan., 1.941.
- 20.- Rocha e Silva: Ensaio com 27 plantas consideradas suspeitas. Arq. Do Inst. Biol. 14:15, 1.943.
- 21.- Almeida Costa, O.: Plantas tóxicas para gado. Rev. de Flora Medicinal, ano XVI, No. 1 Janeiro 1.949.
- 22.- Aristeguieta, L.: Compositae. Edición Special del Instituto Botánico, Universidad Central de Venezuela, Caracas, 10, parte segunda, 324, 1.964.
- 23.- Pérez, A.E.: Plantas útiles de Colombia. Tercera redacción, Librería Colombiana, Camacho Roldan & Cia Ltda., Bogotá, 302, 1.956.
- 24.- Cortés, S.: Flora de Colombia, Segunda Edición. Librería del Mensajero, Bogotá, 202, 1.919.
- 25.- Arias, E.: Plantas Medicinales. Editorial Bedout, 5a. Ed. Medellín, Colombia, p. 88-89, 1.966.
- 26.- Grandval, A. et Lajoux. H.: Compte rendu, 120: 1120, 1.895, in Henry, T. A. "Plant alcaloids" 3rd ed. London p. 614, 1.949:
- 27.- Löefgren, A.: Familia compositae de Flora Paulista, Boletín de Com. Geof. e Geolog. de Sao Paulo, No. 12, 1.897.
- 28.- González-Fragoso, D.R., Lusier, P.A., S.J. y Font-Ouer, D.P.: Historia Natural Tomo III Botánica 5a. Ed. Instituto Gállach de Librería y ediciones Barcelona, 314, 390, 440, 1.960.
- 29.- Adams, R., Warren, F.L., Kropman, M., Govindas-hari.T.R. and Looker, J.: The identity of beta-longilebine with retrorsine, J.Am. Chem. Soc., 71: 1.953, 1.949.
- 30.- Adams, R. and Hamlin, K.E.: Structure of monocrotaline; the proof of primary and secondary hydroxyl groups in retronecine, a derivative of 1-methyl-pyrrolizidine, J. Am. Chem. Soc., 53:228, 1.941.
- 31.- Adams, R., Carmack, M. and Mahan, J.H.: Structure of monocrotaline; structure of retronecine and related bases. J. Am. Chem. Soc., 64:2593, 1.942.
- 32.- Adams, R., and Leonard, N.J.: Structure of monocrotaline, proof of the structure of retronecine, J. Am. Chem. Soc., 66:257, 1.944;
- 33.- Adams, R. and Rogers, E.F.: Structure of monocrotaline; retronecine, a derivative of 1-Methyl-Pyrrolizidine, J. Am. Chem. Soc., 53:228, 1.941.
- 34.- Adams, R. and Rogers, E.F.: The Structure of monocrotaline, the Alkaloid in Crotalaria spectabilis and Crotalaria retusa, J. Am. Chem. Soc., 61 : 2815, 1.939.
- 35.- Adams, R. and Mahan, J.E.: Structure of monocrotaline; Proof of the Double Bond in retronecine, J. Am. Chem. Soc., 65:2009, 1.943.

- 36.- Adams, R. and Rogers, E.F.: Structure monocrotaline; the structure of retronecine, platynecine and retronecanol, J. Am. Chem. Soc., 63:537, 1941.
- 37.- Adams, R. and Gianturco, M.: The Alkaloids of *Crotalaria Juncea*, J. Am. Chem. Soc., 78: 1919, 1956.
- 38.- Adams, R. and Mahan, J.E.: Basicity studies of tertiary vinyl amine. J. Am. Chem. Soc., 64:2588, 1942.
- 39.- Aschina, Y.: Arch. Pharm., 251:355, 1903, según Manske y Holmes en "The Alkaloids", Vol. 1 New York, p. 116, 1950.
- 40.- Mclean, E., Bras, G. and Gyorgy, P.: Veno-occlusive lesions in livers of rats fed *Crotalaria fulva*, Brit. J. Exp. Path. 40:242, 1964.
- 41.- Blackie, J.J.: The alkaloids of the genus *Senecio*. Pharm. J. 138:102, 1937.
- 42.- Barger, G. and Blackie, J.J.: Alkaloids of *Senecio*, J. Chem. Soc. 584, 1937.
- 43.- Henry, T.A.: The plant Alkaloids, 4a. Ed. p. 601, Londres, 1949.
- 44.- Konovalova, R. and Orekhov, A.P.: Alkaloids of species of *Senecio*. Bull. Soc Chem. 54:2037, 1937.
- 45.- Kelly, E.A. and Lynn, E.V.: Chemical study of *Senecio aureus*, J. Amer. Pharm. Assoc. 20:755, 1931.
- 46.- Konovalova, R.A., and Orekhov, A.: Alkaloids of *Senecio* species; degradation of senecionine, Bull. Soc. Chem, 54:1285, 1937.
- 47.- Menschikov, G.P., and Zhdanovich, J.: Über die Alkaloide von *Heliotropium Lasiocarpum*, V. Mitteil: Über *Lasiocarpin*, Ber., 69:1110, 1936.
- 48.- Manske, R.H.F.: The alkaloids of *Senecio* Species, Canadian. J. Research, 5:651, 1931.
- 49.- Noveli, A., Molfino, J., Giunti, M.H.: *Senecio brasiliensis* (Possiva planta tóxica). Semana Médica, 2. 646, Buenos Aires, Stembro, 1944.
- 50.- Orekhov, A., Konovalova, R.A., and Tiedebel, W.: *Senecio* Alkaloids: platyphylline, Ber., 63-B, 1886, 1930.
- 51.- Occhioni, P.: Contribucao para o conhecimento das plantas tóxicas brasileiras. Bol. Min. Agr. Dezembro, 1944.
- 52.- "Senecio and related alkaloids". Eli Lilly and Company research awards. Vol. V., No. 3, Winter, 1949.
- 53.- 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. Ultrastruct. Res.: 20:328-345, 1967.
- 54.- Allen, J.R. Carstens, L.A. and Olson, B.E.: Veno-occlusive disease in *Macaca Speciosa* Monkeys. Am. J. Path. Vol 43:653, 1967.
- 55.- Bras, G., Berry, D.M., and Gyorgy, P.: Plantas as aetiological factor in V. O. D. of the liver. The Lancet, 1:960-962, 1957.
- 56.- Bull, L.B., Dick, A.T. y col.: The acute toxic effects of heliotrine and lasiocarpine, and their N-oxides, on the rat. J. Path. Bact. 75:17-25, 1958.
- 57.- Bull, L.B., Dick, T.A.: The chronic pathological effects on the liver of the rat of the pyrrolizidine alkaloids heliotrine, lasiocarpine and their N-oxides. J. Path. Bact. 78:483-502, 1959.
- 58.- Bull, L.B.: The histological evidence of liver damage from pyrrolizidine alkaloids: megalocytosis of the liver cells and inclusion globules, Aust. Vet. J. 31:33-40, 1955.
- 59.- Chen, K.K., Harris, P.N. and Rose, G.L.: The action and toxicity of platyphylline and seneciphylline, J. Pharm. Exper. Therap., 68:130, 1940.
- 60.- Chen, K.K., Harris, P.N. and Schulze, H.A.: The toxicity of lasiocarpine, J. Pharm. Exper. Therap. 68:123, 1940.
- 61.- Davidson, J.: The action of retrorsine on rat's liver, J. Path Bact. 40:285-295, 1953.
- 62.- Downing, D. T., Peterson, J.E.: Quantitative Assessment of the persistent antimitotic effect of certain hepatotoxic pyrrolizidine alkaloids on rat's liver, Aust. J. Exp. Biol. Med. Soc. 46:493-502, 1968.
- 63.- Gilruth, J.A.: Cirrhosis of the liver (Winton disease in horses), Veterinarian, 75:436, 1902.
- 64.- Goldenhersh, Amer. Rev. Soviet. Med., 1:155 (1943), según Henry en "The Plant Alkaloids" 4a. Ed., p. 614, London, 1949.
- 65.- Harris, P.N., Anderson, R.C. and Chen, K.K.: The action of alloxan, senecionine, sulfadiazine and thiouracil in the hamster, J. Pharm. Exper. Therap. 87:382, 1946.
- 66.- Harris, P.N., Anderson, R.C. and Chen, K.K.: The action of riddelline, J. Pharm. Exper. Therap 78 : 372, 1943.
- 67.- Harris, P.N., Anderson, R.C. and Chen, K.K.: The action of senecionine integerrimine jacobine, longilobine and spartiodine, J. Pharm. Exper. Therap 75: 69, 1942.
- 68.- Harris, P.N., Anderson, R.C. and Chen, K.K.: The action of carthamoidine, J. Pharm. Exper. Therap. 79:133, 1943.
- 69.- Harris, P.N., Anderson, R.C. and Chen, K.K.: The action of isatidine, pterophine and scleratine, J. Pharm. Exper. Therap., 75:83, 1942.
- 70.- Harris, P.N., Anderson, R.C. and Chen, K.K.: The action of monocrotaline and retronecine; J. Pharm. Exper. Therap. 73:78, 1942.
- 71.- Hill, K.R. and Stephenson, C.F.: Hepatic veno-occlusive disease produced experimentally in rats by the injection of monocrotaline, Lancet, 1:623, 1958.
- 72.- Kirk-Othmer: Encyclopedia of chemical Technology, Vol. 1, p. 500, New York, 1947.
- 73.- Lebeau, P. et Courtois, G.: Traite de Pharmacie Chimique, Tome IV, Paris, 1947.

- 74.- Lindo, V. and Bras, G.: Further Investigations on the toxicity of *Crotalaria fulva* in Jamaica. West. Indies. Med. J. 15:34-39, 1.967.
- 75.- Mathews, F.P.: Poisoning of cattle by species of groundsel, Tex. Agr. Exp. Stat. Bull., 481, 1.933.
- 76.- Manske, R.H., and Holmes, H.L.: The Alkaloids, Vol. 1, p. 107, New York, 1.950.
- 77.- Manske, R.H.F.: The alkaloids of *Senecio* species, Canadian, J. Research, 17-B, 1, 1.939.
- 78.- Peterson, J.E.: Effects of the pyrrolizidine alkaloid, lasiocarpine N-oxide, on nuclear and cell division in the liver of rats. J. Path. Bact. 89:153-171, 1.965.
- 79.- Rosenfeld, I. and Beath, O.A.: Pharmacological action of *Senecio riddellii*, J. Amer. Pharm. Assoc. 36:331, 1.947.
- 80.- Rose, C.L., Fink, R.D., Harris, P.N. and Chen, K.K.: The effect of hepatotoxic alkaloids on the Prothombin time of rats. J. Pharm. Expert. Therap. 83:265, 1.945.
- 81.- Rose, C.L., Harris, P.N. y col.: Some pharmacological actions of supinine and lasiocarpine. J. Pharm. 126:179, 1.959.
- 82.- Shimoyama, Y.: Apoth. Zig. 7:453, 1.892, según Manske y Holmen en "The alkaloids", Vol. I, New York, p. 116, 1.950.
- 83.- Schoental, R., Mattocks, A.R.: Hepatotoxic activity of semisynthetic analogues of pyrrolizidine alkaloids, Nature, 185:842, 1.960.
- 84.- Teixeira de Carvalho, G.S. e Mauge, G.C.: Acao tóxica do *Senecio brasiliensis* Less. Fac. Med. Vet. Vol. III, dez. 1.946.
- 85.- Wakim, K.G., Harris, P. and Chen, K.K.: The effects of senecione on the monkey. J. Pharm. Exper. Therap. 87:38, 1.946.
- 86.- Hill, K.R.: Discussion on seneciosis in man and animals. Proceedings of the Royal Society of Medicine. 53: 281, 1.959.
- 87.- Pethick, W.H.: Special report on pictou cattledisease, Dept. Agr. Canadá, 8, 1.906
- 88.- Schoental R., Magee, P.N.: Further observation on the subacute and chronic liver changes in rats after a single dose of various pyrrolizidine (*Senecio*) alkaloids. J. Path. Bact. 78:471-482, 1.959.
- 89.- Schoental, R., Magee, P.N.: Chronic liver changes in rats after a single dose of lasiocarpine, a pyrrolizidine (*Senecio*) alkaloid. J. Path. Bact. 74:305, 1.957.
- 90.- Selzer, G., Parker, R.G.F. and Sapeika, N.: An experimental study of senecio poisoning in rats. Brit. J. Exp. Path. 32:14-20, 1.951.
- 91.- Stoner, H.B., Magee, P.N.: Experimental studies on toxic liver injury. Brit. Med. Bull. 13:102-106, 1.957.
- 92.- Van Es, L., Cantwell, L.R., Martin, H.M. and Kramer, I.: On the nature and cause of "The Walking Disease" of Northwestern Nebraska, Univ. Nebr. Res. Bull., 43, 1.929.
- 93.- Hill, K.R., Rhodes, K., Stafford, J.L., and Aub, R.: Serous hepatitis; A pathogenesis of hepatic fibrosis in Jamaican children. Brit. Med. J., Jan. 17: 117-122, 1.953.
- 94.- Kapoor, S.K., Singh, M., and Kumar, V.: Veno-occlusive disease of liver. Indian Pediat. 9:225-228, 1.972.
- 95.- Safouh, M., Shehata, A. and Elwi, A.: Hepatic vein occlusion disease in Egyptian Children. Arch. Path. 79:300-306, 1.965.
- 96.- Stuart, K.L. and Bras, G.: Veno-occlusive disease of the liver. Quart. J. Med. New Series XXVI: 291-315, 1.957.
- 97.- Al-Hasany, M. and Mohamed, A.S.: Veno-occlusive disease of the liver in Iraq. Arch. Dis. Child. 45: 722-724, 1.970.
- 98.- Mc. Farlane, A.L., and Branday, W.J.: Hepatic enlargement with ascites in children. Brit. J. Med., 1: 838, 1.945.
- 99.- Parker, R.G.F.: Occlusion of hepatic veins in man. Med., 38:369, 1.959.
- 100.- Bras, G., Brooks, S.E.H. and Walter, D.C.: Cirrhosis of the liver in Jamaica, J. Path. Bact. 82:503-512, 1.961.
- 101.- Bras, G., Jelliffe, D.B. and Stuart, K.L.: Veno-occlusive disease of liver with nonportal type of cirrhosis, occurring in Jamaica. Arch. Path. 57:285-300, 1.954.
- 102.- Stuart, K.L. and Bras, G.: Clinical observations on veno-occlusive disease of the liver in Jamaican adults. Brit. J. Med., Vol. 11: 348, 1.955.
- 103.- Stirling, G.A., Bras, G. and Urguhart, A.E.: The early lesion in veno-occlusive disease of the liver. Arch. Dis. Child. 37:535-538, 1.962.
- 104.- Selzer, G., Parker, R.G.F.: Senecio poisoning exhibiting as Chiari's Syndrome. Amer. J. Path. 27: 885-907, 1.951.
- 105.- Leger, L. et al: Veno-occlusive disease of the liver and Budd-Chiari Syndrome. Presse Med. 78:1561-1564, 1.970.
- 106.- Bras, G. and Hill, K.R.: Veno-occlusive disease of the liver. The Lancet. July 28, p.161-163, 1.956.
- 107.- Carter, R.L.: Some implications of hepatic veno-occlusive disease. Path. Microbiol. (Basel) 35:215-219, 1.970.
- 108.- Grases, P.J., y Beker, S.: Veno-occlusive disease of the liver. Amer. J. Med. 53:511-516, 1.972.
- 109.- Hill, K.R., Markson, L.M., and Schoental, R.: Discussion on Seneciosis in Man and Animals. Proc. Roy. Soc. Med. 53:281-288, 1.960.
- 110.- Heath, D.: Pulmonary veno-occlusive disease. Circulation 34:242, 1.966.
- 111.- Putzke, H.P. et al.: Fine Structure of the liver in experimental Veno-occlusive disease. Exp. Path (Jena) 6:325-332, 1.972.