

PRIMERA PARTE

EFECTO DEPILATORIO DEL "COCO DE MONO"

(*LECYTHIS OLLARIA*) *

Dr. Francisco Kerdel-Vegas **

INTRODUCCION

La creencia popular arraigada en Venezuela, de que la ingestión de semillas de "Coco de Mono" produce la caída del pelo, la constatación de semejante efecto en humanos por observaciones clínicas bien documentadas, Vegas 1936 ⁷⁶, Vélez Boza 1943 ⁷⁴ y Kerdel Vegas 1964 ³⁵, así como la comprobación del efecto depilatorio en animales en condiciones experimentales (Kerdel Vegas 1964 ³⁶), nos indujeron a estudiar el problema en sus diferentes perspectivas, lo que ha dado motivo a una serie de investigaciones que hemos reunido en este estudio que se presenta a la Facultad de Medicina de la Universidad Central de Venezuela como trabajo de ascenso a la categoría de PROFESOR TITULAR en la Cátedra de Clínica Dermatológica y Sifilográfica, de acuerdo con lo estatuido en la Ley de Universidades vigente.

Se trata de una investigación sobre un fenómeno nuevo, observado por primera vez en Venezuela por el Dr. Martín Vegas y las investigaciones realizadas hasta el momento, que se presentan en este trabajo, aclaran y explican las observaciones y hechos constatados por la clínica.

La identificación del género y especie de la planta, comúnmente conocida como "Coco de Mono", fue posible con la colaboración de uno de los pacientes que sufrieron el "defluvium capillorum", después de la ingestión de las semillas de dicha planta. Con material proveniente de dicho árbol, el Dr. Tobías Lasser, Director del Instituto Botánico de la Ciudad Universitaria de Caracas, lo pudo identificar como *Leeythis ollaria*. Una vez localizado el sitio donde el paciente se intoxicó, fue posible recoger, en dos años sucesivos, suficiente cantidad de semillas para llevar a cabo nuestras investigaciones, teniendo la seguridad de que se trataba de un producto que había demostrado actividad farmacológica en humanos.

* Trabajo presentado el 15 de septiembre de 1964 para competir en el Premio "Martín Vegas", fue galardonado con dicho premio de la Sociedad Venezolana de Dermatología, Venereología y Leprología. Igualmente, fue presentado y aprobado como trabajo de ascenso a la categoría de Profesor Titular de la Facultad de Medicina de la Universidad Central de Venezuela.

** Profesor Titular de Dermatología, Escuela de Medicina José Vargas, Facultad de Medicina de la Universidad Central de Venezuela; Primer Adjunto del Servicio de Dermatología del Hospital Vargas, Caracas.

Fue posible en primer lugar demostrar actividad biológica, en lo que se refiere a la supresión del crecimiento del pelo en animales de laboratorio (Experimento I) ; proceder a aislar el principio activo (Experimento II) ; identificar químicamente la estructura del principio activo (Experimento III) ; y estudiar el efecto citotóxico de ese principio activo (Experimento IV). Las tres primeras fases del trabajo son consecuencia lógica una de la otra; en cuanto a la cuarta y última fase, surgió como una posibilidad digna de ser estudiada, en vista de los conocimientos, que actualmente se han acumulado, acerca del efecto de algunos agentes citotóxicos sobre el crecimiento del pelo, y dicha hipótesis ha resultado de gran interés y podríamos especular que dará origen a otros trabajos de importancia en relación con el tratamiento del cáncer experimental en animales de laboratorio, y luego en humanos; tratamiento de la psoriasis; supresión de la espermatogénesis ; y al estudio de su potencial como antimetabolito capaz de paralizar las reacciones de antígeno-anticuerpo en hétéro transplantes de órganos y tejidos. Estos estudios son consecuencia lógica de los que vamos a presentar, debido a la comprobación de los efectos depilatorio y citotóxico del principio activo del "Coco de Mono".

El trabajo se compone pues de varias partes y es difícil muchas veces hacer separaciones entre una y otras secciones. Con excepción de la identificación de la estructura química del producto activo, que será publicada en una revista de farmacología y toxicología, fue totalmente realizado en Venezuela, y es íntegramente inédito.

El autor se siente altamente honrado en dedicar este trabajo al Dr. Martín Vegas, a quien le corresponde el honor de haber señalado por vez primera en el mundo, en forma precisa, el curioso efecto de la caída profusa del pelo, después de la ingestión de las semillas de "Coco de Mono", hecho que representa el punto de partida de todo lo que se ha escrito y estudiado sobre esta materia en años recientes, y ciertamente lo que dio origen a nuestro interés en el problema que ha conducido a la realización de nuestros trabajos que pasamos a presentar.

II. LA PLANTA LECYTHIS OLLARIA

Con el nombre de "Coco de Mono" se designa en Venezuela a plantas de dos géneros diferentes; en primer lugar, y en forma más común y generalizada, a varias especies del género *Lecythis*; y también al árbol denominado *Couroupita guianensis*, al que igualmente se conoce con el nombre de "Coco Hediondo" debido al penetrante y desagradable olor de su savia y fruto carnoso. Este último es fácilmente descartable, por sus características propias, y carece de la actividad farmacológica objeto de este trabajo.

El "Coco de Mono" que nos interesa pertenece por lo tanto a la familia de las Lecitidáceas, constituida por cerca de 45 especies diseminadas en la banda tropical del continente americano, en una extensa zona que va del Brasil a Costa Rica (Menninger, 1962⁴²).

Refiere Pittier⁵⁵ que este árbol de gran tamaño fue descrito por vez primera en Venezuela por el botánico Loefling hacia 1754 ó 1755, en los alrededores de Barcelona (Estado Anzoátegui), siendo la referencia: *Lecythis ollaria* Loefl., *Ites hisp.* 159, 1758. Sin.: Olla del mono, olleto.

De acuerdo con la información suministrada por Ernst, la misma especie crece también en los estados Guárico y Portuguesa. La madera de este árbol es de color rojizo amarillento, bastante dura y pesada y el aceite extraído de las semillas se considera como un poderoso hemostático. Otros géneros identificados en Venezuela son los siguientes

Lecythis minor Jacq. *Stirp. Am. 1:168, t. 109-1788.*

Lecythis longifolia H. B. K. *gen. sp. 7:260-1825.*

Eschweilera cordata Miers, *Trans. Linn. Soc. 30:270-1873.*

Couroupita guianensis Aubl.

Jugastron christii Pittier 1925.

Lecythis bipartita Pittier, *Arb. y arb. nuev. Ven. 39-1923.*

(Este último árbol se encontró en los alrededores de Carora, donde se le llama "cacahuete", aunque este nombre se aplica con más propiedad al maní, y según el Dr. Eladio del Castillo, la ingestión de sus almendras oleaginosas provoca vómitos) (Pittier, 1939⁵⁶)

Pérez Arbeláez⁵³ en su libro sobre plantas colombianas, da como sinónimos de "olla del mono" a la *Lecythis ollaria*, L. *ellyptica* H.B.K., L. *Curranii* Pitt, cuyos nombres vulgares son : Kakeralli, sapucaiapilao (Brasil). Dice que son pericarpios secos en forma de ollas, con reborde grueso, provistos de tapa. En su interior se hallan colocadas las almendras, de membrana parda y pulpa grasosa amarillenta y afirma que son comestibles. Insiste en que por la facilidad con que germina, la estructura del tronco, y excelentes condiciones de la madera, podría constituir un valioso elemento de repoblación forestal. Dice que la savia da una bebida grata, y las semillas pueden prensarse para obtener aceite comestible.

La Dra. Julia Morton⁴⁶ nos ha suministrado algunas informaciones adicionales que nos parecen de gran interés, y que gentilmente nos fueron enviadas de la Morton Collectanea de la Universidad de Miami. Entre otras, Hoehne³¹ se refiere al género *Japarandiba*, relacionado con las *Lecythis*, manifestando que a pesar de tantas utilidades que tienen las Lecitidáceas, existen entre ellas representantes que tienen sustancias activas tóxicas; son las del género *Japarandiba* del norte del Brasil, mencionándose la ictericia como consecuencia de la ingestión de semillas de *J. speciosa* (H. B. K.) O. K.

Castañeda¹² menciona en su libro la *Lecythis minor* Jacq., dando como sinónimos *Lecythis elliptica* HBK., y *Lecythis minor* DC. Como nombres vulgares y dispersión geográfica, en la vecina República de Colombia, menciona : 1) Coco-mono, en Chimichagua y El Banco (Magdalena) ; 2) Olla de mono, en Atlántico, Bolívar, La Guajira, Magdalena; 3) Olleto, en Atlántico; 4) Ollita de mono, en Atlántico, Magdalena. Dice que es un árbol del norte de Colombia y no pasa de 500 metros sobre el nivel del mar. Refiere que "Jacquin -quien estudió este vegetal durante su permanencia en Cartagena, a mediados del siglo xviii -reputó como venenosas las semillas por cuanto que después de comerse una sola de ellas experimentó vértigos y otras molestias y así lo consigna en la obra donde describió esta especie. Muy otra debió ser la causa del malestar sufrido por dicho caballero. Esa opinión del botánico mencionado se ha generalizado hasta nuestros días -en la Costa Caribe- pero ella no es cierta. Estas semillas son buen alimento y pueden comerse sin peligro de ninguna clase para la salud".

En cambio Howes ³³ en su libro afirma, que cuando la semilla es fresca, se dice que la cáscara contiene un principio venenoso. Refiere también que William Piso en 1658 al referirse a las semillas las calificaba como de altamente estimadas por los nativos suramericanos como alimento, y declaraba que el exceso de su ingestión causa calvicie, pero que era dudoso que ello fuera cierto.

Menninger ⁴² dice que las especies de *Lecythis* se han distinguido por las deliciosas nueces de Sapucaya (producidas por algunas especies, principalmente *L. zabucajo* Aubl), por las curiosas ollas para las semillas (algunas tan grandes como una cabeza humana), y por sus flores. Dice que las flores son grandes, usualmente rojas o amarillas, y serían conspicuas, si no estuvieran sumergidas en un denso follaje, que impide verlas hasta que caen en la tierra donde forman una verdadera alfombra bajo el árbol.

Con referencia a su acción farmacológica, hay preciosas informaciones desde hace dos siglos, y es interesante reproducir aquí el testimonio que nos suministra Jacquin ³⁴ en 1763: "Unicum semen integrum assumpsi, quod sapore gratissimo deprehendi; sed post mediam horam nausea, anxietate magna, eapitisque titubatione praeter consuetudinem fui vexatus; an ab hoc nucleo" (Tomó una entera y la encontró muy agradable al paladar pero que después de media hora sintió náuseas, una ansiedad grande y vértigos - Traducción de H. Pittier).

Lisandro Alvarado ² describe las especies de *Lecythis* como árboles elevados que crecen en los Llanos y Guayana, así llamados por la estructura de su fruto, que es elipsoideo y se abre merced a una tapa u opérculo situado en uno de sus polos. Los monos abren con destreza el fruto para comerse las almendras que contiene, pero la gente de los campos no comen estas semillas porque tienen la preocupación de que produce alopecia o caída del pelo.

F. Vélez Salas refiere en su libro un testimonio de un hombre que después de comer los frutos maduros perdió el cabello, y también asienta el hecho, de que los indígenas usaban como depilatorio el látex del pericarpio.

El Profesor Castelhanos ¹⁶, de la Sección de Botánica del Museo Nacional del Brasil, manifiesta que en Brasil existen cerca de 27 especies de *Lecythis*, desde el norte del país hasta la altura del paralelo que pasa por Río de Janeiro. La castaña de Pará que se consume como alimento, tanto en Brasil como en otros países, a donde se exporta (por ejemplo, Estados Unidos) pertenece a la misma familia de las *Lecythidaceae*. En el norte de Brasil hay una voz popular de que la ingestión de "sapucaia" (sinónimo de "coco de mono") hace caer el cabello. Sobre el particular no se encuentra en Brasil ninguna referencia científica, ni verificación médica.

El Profesor Lair Rennó ¹⁶, de Belo Horizonte (Brasil), manifiesta igualmente que de acuerdo con "Flora Brasiliensis", vol. XIV, Pars I, existen 47 especies de *Lecythis*, en las zonas tropicales y subtropicales del hemisferio occidental, la gran mayoría en el norte de Brasil (Amazonas, Pará, etc.). Refiere que la *Gustavia speciosa* DC., *Lecythidaceae* de Colombia, cuyos frutos son comestibles, "producen rápidamente una curiosa coloración amarilla del pelo que dura ordinariamente 48 horas". El fruto de una especie brasileña del mismo género, la *Gustavia brasiliana* DC., tiene propiedades eméticas.

El Dr. T. Lasser³⁹ informa que en Venezuela se encuentran árboles del género *Lecythis* en los estados Sucre, Anzoátegui, Guárico, Portuguesa, Lara, Bolívar, etc., y se han determinado al menos cuatro especies *Lecythis longilofia*, *L. minor*, *L. ollaria* y *L. vernusta*.

La *Lecythis ollaria* responsable de la intoxicación y subsecuente caída del cabello del caso de Kerdel-Vegas^{35,36}, ha sido descrita por el Dr. T. Lasser de la siguiente manera: "*Lecythis ollaria* Loefl. Iter. Hisp. 159. 1758 - *L. ollaria* L. Spec. Pl. 734. Arbol de considerable tamaño, ramas verrugosas, hojas sésiles o subsésiles, alternas, chartáceas, ovado a ovado oblongas, ápice obtuso a obtuso-acuminado, base obtusa a subcordada, subserrada, nerviación reticulada poco marcada, 5,2 - 9 cm. largo y 2,5 - 5 cm. ancho. Madera color rojizo amarillento a pardo oscuro, muy resistente. Inflorescencia terminal en espiga, brácteas ovadas deciduas, flores variables, sépalos 6, oblongas, desiguales, los exteriores redondeados, cóncavos, persistentes. Pétalos 6, más grandes que los sépalos, espatuliformes, casi iguales, oblongos a subredondeados, cóncavos, con el margen reflexo, blancos. Ovario inferior, 4-locular, con el vértice depresso, estilo breve, estigma obtuso. Pixidio grande, redondeado, con una cinta anular obtusamente 6-lobada. Pericarpio leñoso. Uso : Madera muy resistente a los ataques de los insectos, el aceite extraído de la semilla se considera un poderoso hemostático".

A título anecdótico podemos mencionar las versiones acerca del origen del nombre "coco de mono" que se ha dado a esta planta, comenzando por aquella que lo relaciona por la semejanza entre el fruto del árbol y la cabeza del simio. Se dice también, que el nombre de "coco de mono" es debido a que sus frutos se utilizan a menudo para atrapar monos. La esfera leñosa tiene una apertura circular hacia su polo inferior, ocluida por un opérculo que eventualmente se desprende. El mono introduce la mano por el orificio, agarra una almendra y no puede retirarla con el puño cerrado, y el dicho popular asienta, que el animal se deja capturar antes que soltar la presa.

En Brasil hay un refrán que dice: "macaco viejo no mete la mano en cumbuca" ("cumbuca" es un vaso de abertura menor que el resto del recipiente), queriendo señalar con ello que solamente los monos jóvenes e inexpertos pueden ser capturados en la manera arriba descrita²⁸.

En Venezuela, en las zonas de los llanos donde se encuentra la planta, está arraigada la creencia popular entre los nativos del lugar, de que la ingestión de las semillas de este árbol produce caída del cabello y aun del vello corporal. De acuerdo con las observaciones publicadas, todos los casos que han sufrido la intoxicación y caída subsiguiente del pelo, eran extraños al lugar, y al menos en dos oportunidades las víctimas potenciales fueron advertidas por los pobladores del lugar, del peligro que entrañaba la ingestión de dichas almendras y de las consecuencias ulteriores en relación con la caída del cabello.

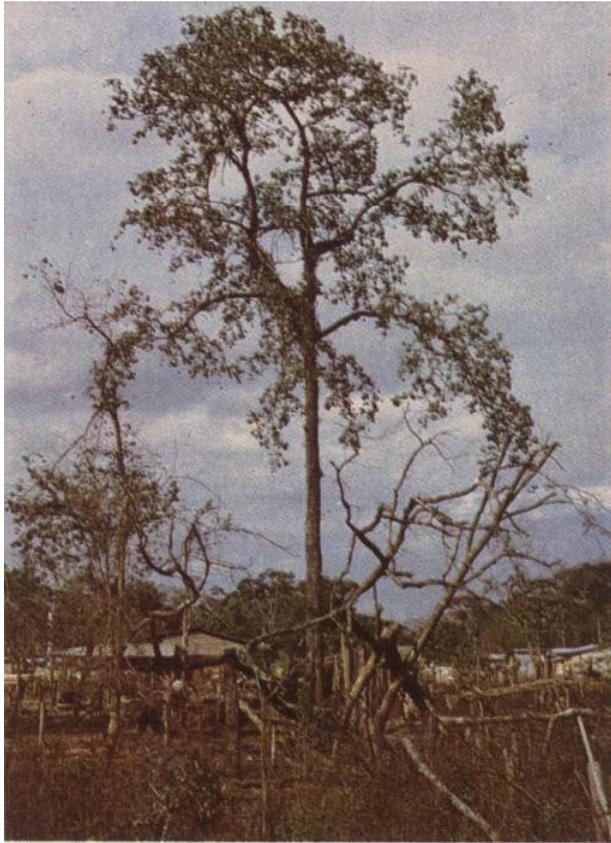


Fig. 1.-Árbol de *Lecythis ollaria*, donde se aprecia el tamaño y frondosidad del espécimen, por la tala de la vegetación vecina.



Fig. 2.-Arbol de *Lecythis ollaria*. Obsérvese el tamaño del hombre que lo trepa para recoger los frutos, y de las casas vecinas, en comparación con las dimensiones de la planta.

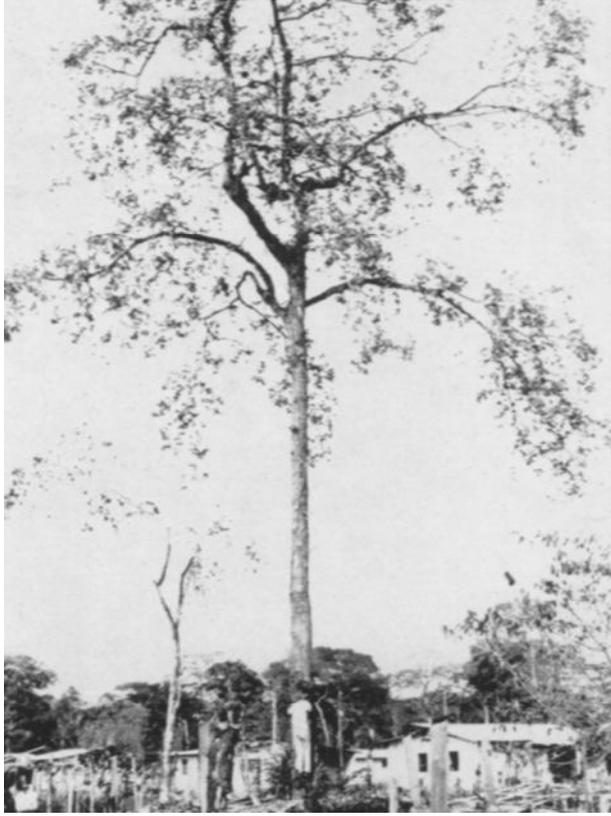


Fig. 3.-Aspecto general del árbol de "coco de mono" (*Lecythis ollaria*), destacando su gran tamaño. Esta foto fue tomada en el caserío de un asentamiento de la reforma agraria en el estado Portuguesa, y debido a la tala de todos los árboles de un gran bosque allí situado, respetando tan sólo este árbol, fue posible fotografiarlo aisladamente, lo que es bastante difícil en general.



Fig. 4.--Se observa un árbol de *Lecythis ollaria*, en medio de un bosque de denso follaje. Esta planta mantiene sus hojas verdes aun en el verano y puede identificarse sin dificultades por las características de sus frutos.

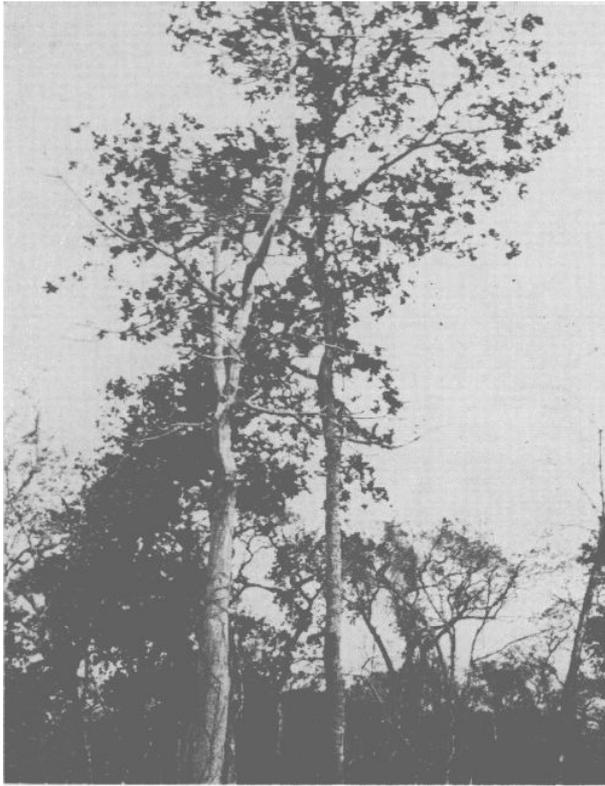


Fig. 5.-Arbol de "coco de mono" en la vecindad de otros árboles.



Fig. 6.-Detalle del tronco verrugoso del árbol de *Lecythis ollaria*, en el momento en que es trepado por un hombre que va a cortar ramas con frutos, para así obtener las semillas con que se realizaron las experiencias de este trabajo.



Fig. 7.-Detalle de la arborización de la planta.



Fig. 8. Detalle del tronco, ramas y frutos de la *Lecythis ollaria*. Como puede observarse en la fotografía, la mayor parte de los frutos han dejado caer el opérculo y las semillas al suelo, donde rápidamente son ingeridas por animales salvajes.



Fig. 9.-Arbol *Couroupita guianensis*, conocido comúnmente en Venezuela con los nombres de "coco de mono" y "coco hediondo", que no debe confundirse con el otro "coco de mono", *Lecythis ollaria*, con características completamente diferentes. Nótese la forma y tamaño del fruto, que es carnoso y cuyo olor es muy desagradable, de allí el nombre que se le ha dado popularmente. (Cortesía del Dr. José Luis Canelón Arocha).



Fig. 10. Dos tipos de "ollas de mono", es decir, del pericarpio leñoso característico del género *Lecythis*. La de la parte superior de la fotografía es de mayor tamaño y se ha secado en su interior. La de la parte inferior, de menor tamaño, está recién abierto y es por ello que el interior es de color blanco amarillento. También se observan las semillas del fruto.

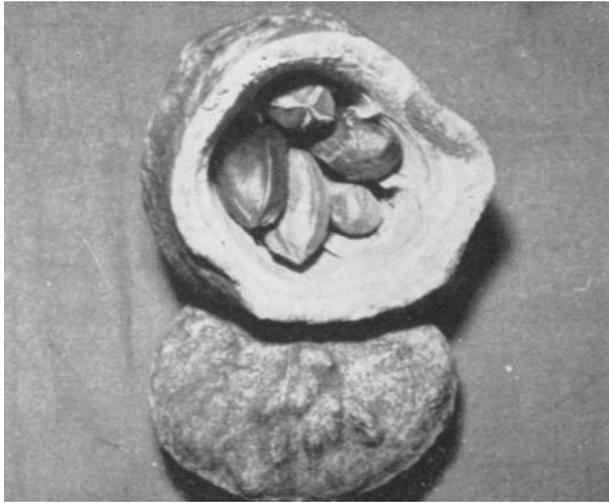


Fig. 11.-Se puede apreciar la forma típica de la "olla" y opérculo leñosos, y las semillas de la planta *Lecythis*, ollaria, provenientes del Hato Garzón al sur del estado Portuguesa, en el sitio donde se intoxicó uno de los pacientes mencionados en la literatura científica venezolana ^{35, 36},

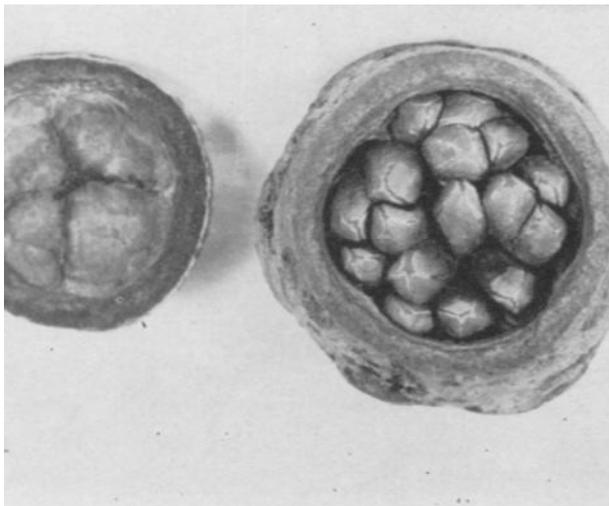


Fig. 12.-Aspecto interno de la fruta de la *Lecythis* ollaria, mostrando la disposición de las semillas en el interior del pericarpio leñoso y la forma del opérculo a la izquierda.



Fig. 13 .-Aspecto externo del fruto de la *Lecythis ollaria* mostrando su pericarpio leñoso, y el opérculo desprendido a la derecha.



Fig. 14. Se observa el pericarpio leñoso de la fruta de la *Lecythis ollaria* y el aspecto de las múltiples semillas acabadas de sacar del interior del fruto.



Fig. 15. Detalle de las semillas de "coco de mono". Exteriormente su color es pardo claro, por dentro son Manco amarillentas y aceitosas. El sabor es excelente.

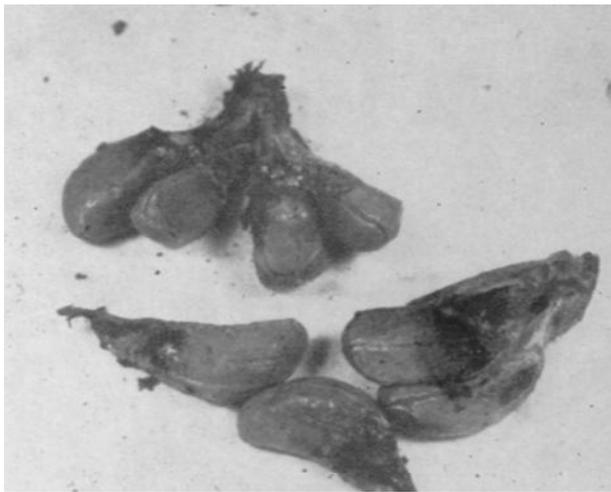


Fig. 16.-Detalle de las semillas de *Lecythis ollaria*, recubiertas por una membrana pardusca. El interior de las semillas es de color blanco-amarillento y muy rico en grasas.

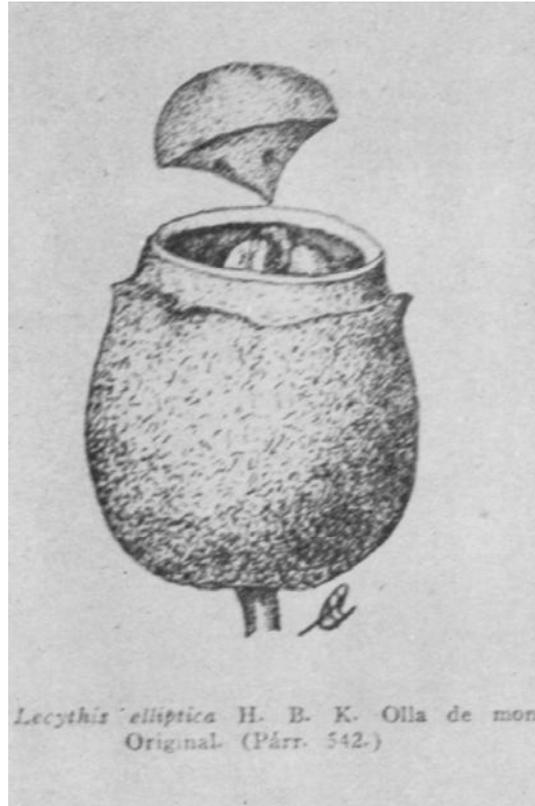


Fig. 17. Fotografía tomada del libro de E. Pérez Arbeláez "Plantas Útiles de Colombia" (1956), donde se observa la "olla leñosa característica de la especie *Lecythis elliptica* H. B. K., con su opérculo y sus semillas en el interior, planta que también se conoce en Colombia con el nombre de "Olla de mono"⁵³



Fig. 18. Fotografía en Kodacolor de una litografía del libro "Pageantry of Tropical Birds" de J. Th. Descourtilz 20 en la cual se aprecia una guacamaya amarilla abriendo el opérculo inferior de una "olla de mono" para extraer y comer las semillas. El artista Jean Théodore Descourtilz, famoso pintor de aves, captó esta interesante escena en Brasil en la segunda mitad del año de 1854.

III. EL PROCESO DE LA QUERATINIZACION

Para poder comprender el mecanismo de la interferencia de la queratinización, vamos a mencionar muy brevemente los conceptos actuales sobre este proceso biológico fundamental.

Todas las células germinativas de la epidermis y de sus anexos, pelos y uñas, tienen un ciclo vital definido, y a medida que se multiplican y sus células hijas avanzan hacia la superficie, van a sufrir alteraciones en su constitución, hasta que al final de ese ciclo se convierten en estructuras muertas, anucleadas, denominadas células córneas. En la epidermis de los mamíferos este producto final es continuamente descamado en forma de diminutas partículas invisibles. La transformación de células epiteliales vivientes en material córneo es pues lo que se denomina el proceso de "queratinización" o "cornificación". La queratinización es la síntesis de proteínas amorfas o fibrosas, altamente resistentes, que son retenidas por las células. Constituye este proceso uno de los aspectos de mayor importancia de la biología cutánea.

Desde el punto de vista químico la única diferencia importante entre la composición de la queratina y de las proteínas de las células de las cuales deriva, lo constituye el alto contenido de cistina de la queratina. El aumento en la composición de cistina va asociado en una disminución proporcional de los aminoácidos que contienen sulfhidrido (-SH). Se ha establecido en forma definitiva que los aminoácidos que contienen grupos sulfhidrilos en cadenas de polipéptidos vecinos, se asocian entre sí mediante los enlaces disulfuro (- S - S -) que se constituyen en esa circunstancia. Hay un acuerdo general, en que esta transformación constituye el

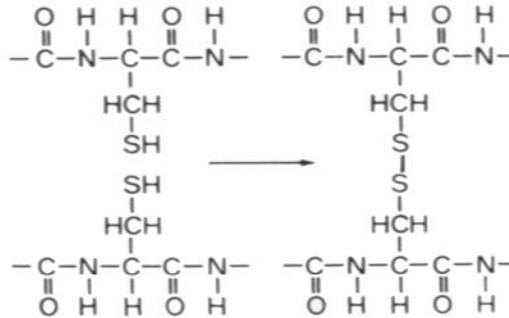


Fig. 19. Formación del enlace disulfuro. Durante la queratinización los residuos aminoácidos que contienen grupos sulfhidrilos (-SH), situados frente a frente en cadenas de polipéptidos vecinos, son oxidados para formar un enlace cruzado disulfuro (-S-S-). Los residuos de: cisteína formarán un residuo de cistina, con puentes que unen dos cadenas de polipéptidos. En la queratinización hay pues una disminución evidente de los grupos -SH. Esta reacción es básica desde el punto de vista químico en la formación de queratina. (Según S. Rothman⁶⁰)

hecho químico de mayor importancia en el proceso de queratinización. Este esquema es fácil de aplicar a residuos de aminoácidos conteniendo sulfhidrilos tales como la cisteína, y aun cuando la reacción es más compleja, también es válida para la metionina.

La formación de estos enlaces disulfuro (- S - S -) explica satisfactoriamente la resistencia de la queratina a las enzimas y la hidrólisis. El hecho fundamental no lo constituye la cantidad de cistina, sino su posición en la molécula, ya que la solidez de la misma se debe a que los grupos disulfuro actúan como puentes entre dos cadenas de polipéptidos. En el pelo, el hallazgo químico sobresaliente, lo constituye su alto contenido en cistina, que es cinco veces mayor que en la capa córnea, resultando en una queratina más dura, con más enlaces en puente.

Es bien sabido que existe una serie de sustancias que administradas sistémicamente son capaces de inhibir la queratinización, es decir aquellas estructuras caracterizadas por la síntesis de esta proteína. Una excelente revisión de este problema ha sido recientemente presentada por Flesch ²⁵ y aquí nos limitaremos, con el propósito de explicar nuestra hipótesis de trabajo, a comentar los aspectos más relevantes y pertinentes de este artículo.

Hay dos grandes grupos de sustancias antiqueratinizantes. El primer grupo está constituido por aquellas sustancias que ocasionalmente producen trastornos en el desarrollo de las estructuras córneas, caída del pelo, trastornos del crecimiento ungueal o dermatitis exfoliativa, mediante mecanismos inespecíficos o alérgicos, ya que sólo ocurre en un número excepcional de individuos, no siendo afectadas la gran mayoría de las personas. En este grupo están incluidos los metales pesados, los arsenicales y la Atebrina (quinacrina).

Para los efectos de este trabajo, sólo tienen interés, las sustancias pertenecientes al segundo grupo, cuyo efecto principal -a veces único- consiste en la interferencia con el desarrollo del pelo o de la capa córnea, ya que la uña es un órgano que por circunstancias especiales es más difícil de estudiar. Es conveniente señalar aquí que además de las tres estructuras queratinosas mencionadas, el timo -un órgano que ha adquirido nuevo interés en los últimos años- sufre cambios similares a la queratinización, en la producción de los corpúsculos de Hassall. Hay también diferencias fundamentales entre la queratinización del pelo y de la epidermis, ya que mientras los folículos pilosos producen pelo de manera intermitente, la capa córnea es sintetizada de modo continuo y sin interrupciones ni descanso.

En los períodos de inactividad, los pelos son estructuras completamente queratinizadas, desprovistas de vida, por lo tanto sólo los pelos en activo crecimiento (fase de anágeno) son afectados por las drogas depilatorias administradas sistémicamente. Las variaciones locales e individuales en lo que se refiere a la duración del período o fase de crecimiento, hace que cierto tipo de pelo con períodos largos de crecimiento, sean más susceptibles al ataque de los químicos que aquellos pelos con largos períodos de inactividad. Un ejemplo bien conocido es el del cuero cabelludo, donde la gran mayoría de la población pilosa (90%) está en crecimiento activo, por lo que estos fenómenos de depilación se observan allí con más regularidad que en otras partes del cuerpo.

En los períodos de crecimiento, el coeficiente de multiplicación celular es mucho más alto en la matriz pilosa que en la epidermis. En la raíz del pelo el coeficiente de mitosis es aparentemente del mismo orden o magnitud que en muchos tejidos malignos. Y es por ello que como regla general, los agentes antimitóticos (citotóxicos) afectan el folículo piloso, sin presentar efecto visible en la epidermis. La situación inversa merece pues ser estudiada, es decir, la evaluación del efecto citotóxico o antimitótico, de una determinada sustancia capaz de producir caída del pelo, y ello fue lo que nos indujo a estudiar esta propiedad en el principio activo del "Coco de Mono".

El pelo en crecimiento es alterado por agentes antimitóticos, sustancias que afectan el metabolismo del azufre, y sustancias que interfieren con la síntesis del cemento, cuya composición es ciertamente diferente del cemento de la capa córnea. Ninguna de estas acciones tiene efecto en la epidermis normal. Por lo tanto, la interferencia con el crecimiento piloso siempre precede a cualquier alteración que pueda ocurrir a nivel de la epidermis, y a menudo ocurre que la caída del cabello es el único síntoma presente.

La caída del pelo puede ser temprana o tardía, pero en ambos casos, y no importa cuál sea la naturaleza del agente tóxico, la caída del pelo es siempre reversible, es decir, la repoblación pilosa que sigue a la injuria, es siempre la regla, y tan pronto se suspende la administración del agente depilatorio, el pelo vuelve a crecer, aunque se han citado casos de adelgazamiento permanente del pelo.

En la epidermis hay situaciones patológicas de hiperqueratosis por sobreproducción, debido al aumento de actividad metabólica o mitótica, cuyo ejemplo típico es la psoriasis, que son modificadas temporalmente por la administración de agentes citotóxicos, tal como se ha comprobado en la práctica, con la administración de Aminopterina y Methotrexate, cuyo puesto en el tratamiento de esta afección parece definitivamente asegurado. De allí, igualmente, nuestro interés en determinar el efecto del principio activo del "Coco de Mono" en esta enfermedad cuya morbilidad e índice de incapacitación, representan un problema médico de considerable importancia.

Los siguientes compuestos interfieren con la formación de las estructuras córneas: vitamina A, talio, compuestos antineoplásicos, agentes hipercolesterémicos, dímeros del c'oropreno, mimosina y anticoagulantes. Esta lista contiene sustancias muy disímiles entre sí, que actúan de modo diferente, a menudo desconocido. A ella habría que agregar la cistaselenonina, cuyos efectos depilatorios han sido mencionados en la literatura en numerosas ocasiones siempre en relación con animales, especialmente en el ganado, pero cuya acción inhibitoria del crecimiento piloso en humanos, sólo con las observaciones de este trabajo, han venido a ser comprobadas de manera definitiva.

Resumiendo en forma muy sintética el mecanismo de acción de estas diversas sustancias, se admite en general, que la vitamina A cambia el proceso metabólico del citoplasma, de la formación de queratina hacia la síntesis de mucopolisacáridos, o puede actuar liberando una proteasa. Las drogas antineoplásicas inhiben las mitosis en la matriz pilosa, que como sabemos prolifera de manera vertiginosa, y esto lo logran actuando de diferentes maneras. Las drogas hipocolesterémicas posiblemente impiden la síntesis de un

cemento proteolípido. Las formas de acción de los dímeros del cloropreno, de la mimosina y de los anticoagulantes, son esencialmente desconocidas.

Hemos dejado para último el mecanismo de acción del talio, ya que interfiere con la utilización o incorporación de la cistina. Al inhibir la utilización de la cistina o su incorporación a la molécula de queratina, el talio puede ser considerado como un verdadero agente antiqueratinizante. En las ratas, el efecto tóxico puede ser bloqueado por la administración de cistina, y en menor grado por la de metionina, mientras que los compuestos de sulfhidrido no tienen tal efecto. Los síntomas clínicos en humanos también son compatibles con el punto de vista de que el talio interfiere con la síntesis de la queratina. En la intoxicación o envenenamiento en humanos, -situación que todavía confrontamos a pesar de que afortunadamente ya no se usa para tratar la *tinea capitis*, sólo observamos ocasionalmente este proceso en casos de intentos suicidas con raticidas conteniendo talio- la caída temprana del pelo, afinamiento intrafolicular, rarefacción o ruptura de los pelos, son todas indicaciones claras de que este metal directamente afecta al pelo en crecimiento ^{67, 68, 69, 70, 71}.

Como veremos más adelante, en el caso del "Coco de Mono", hay ciertas similitudes con el mecanismo de acción del talio, ya que también hay interferencia con la cistina y la metionina, cuyos átomos azufrados son reemplazados por selenio.

IV. OBSERVACIONES CLINICAS PUBLICADAS

Las observaciones médicas publicadas en la literatura científica mundial son muy limitadas, y en cualquier caso, circunscritas a Venezuela. Por insinuación del Profesor Vicente Pardo-Castelló, escribimos a un número representativo de distinguidos dermatólogos de Centro y Sur América, especialmente aquellos radicados en los países donde tenemos conocimiento que existen especies del género *Lecythis*, y con excepción de la escueta mención del Profesor Cestelhenos ¹⁸, ya mencionada, de que en el norte de Brasil, la voz popular describe caída del cabello en quienes comen estas semillas, nuestra encuesta produjo resultados completamente negativos.

Los casos publicados en Venezuela son los siguientes

1. *Observación de M. Vegas* ⁷⁶: El año de 1936 examinó un paciente blanco, de 50 años de edad, de profesión ingeniero, de nacionalidad norteamericana, quien trabajando en labores exploratorias para una compañía petrolera, se encontraba en los fanos del estado Guárico el día 15 de marzo de 1936, en que comió 10 semillas crudas y 10 cocidas por ebullición en agua, de la almendra denominada "coco de mono"; a las 48 horas ingirió 20 semillas más, también cocidas, sufriendo al siguiente día una fuerte intoxicación, con náuseas, vómitos y cefalalgia. A la semana (le haber presentado esta sintomatología, notó sensibilidad al peinarse en todo el cuero cabelludo, durante 4 días. Entre los 10 y 12 días de la primera ingestión, comienza a percibir abundante caída del cabello al peinarse, que se acentuó en los días que siguen, y luego se generalizó a todos los vellos del cuerpo. Se pudo determinar que las almendras conocidas por el vulgo con el nombre de "coco de mono"

o "fruta del mono", pertenecen al género *Leeythis*.

La evolución ulterior del caso descrito, no mencionada en el trabajo original, fue de alteración importante de las láminas o limbos ungueales de los dedos de ambas manos, donde al cabo de pocas semanas, presentaba una banda transversal de color gris, que según describe el paciente en una carta del 1º de julio de 1936, estaba ubicada aproximadamente en la parte media de los limbos ungueales de todos los dedos de ambas manos, con pérdida de la adherencia entre la lámina y su lecho en ese sitio, lo que llegó a producir la caída total de la uña del dedo meñique derecho. No hubo dolor, pero acusaba aumento de sensibilidad a la presión de los dedos. Aparentemente, las uñas de los pies no resultaron afectadas en ningún momento. También acusó dolor de los músculos del cuello, que se inició a las 3 semanas de haber ingerido las almendras -o sea, cuando se inició el defluvium- y continuó por meses. La repoblación pilosa ulterior y el crecimiento de las uñas se normalizaron por completo posteriormente.

2. *Observación de F. Vélez-Boza*⁷⁴: En 1941 fue llamado a asistir 1 pacientes que presentaban signos de intoxicación aguda con náuseas y vómitos, después de haber ingerido semillas de "coco de mono", en las proximidades del pueblo de San Joaquín, estado Anzoátegui. Se trataba de un muchacho de 12 años, una mujer de 17 y dos hombres de 19 y 25 años, recién llegados a esa región e inadvertidos de los peligros potenciales de la ingestión de estas almendras.

Caso 1º: El muchacho de 12 años; comió unas 7 almendras; al poco tiempo sintió náuseas y vomitó las semillas, no presentando otros trastornos posteriormente.

Caso 2º: El joven de 19 años; comió unas 14 semillas, y presentó a la hora sensación de náuseas, vomitando también y quedando en un estado de mareo, que desapareció al segundo día. Presentó signo de Romberg positivo. A las 3 semanas pudo observarse caída del cabello, aunque en poca cantidad.

Casos 3º y 4º El hombre de 25 años y la muchacha de 17 años; comieron gran cantidad de semillas, presentando también al poco tiempo náuseas y vomitaron una pequeña cantidad de lo ingerido. Acusaban fuerte sensación de ardor a lo largo del esófago y estómago, mareo fuerte y signo de Romberg positivo; no se encontraron trastornos en los reflejos tendinosos, ni oculares, ni otros síntomas relevantes, cardíacos, circulatorios, ni renales. Tampoco hubo fiebre. Ambos despedían un olor penetrante y desagradable en el aliento, semejante al que presentan las algas en descomposición o el fósforo, y mareo continuo por varios días. Al siguiente día presentaron diarrea. Al cabo de 3 semanas presentaron caída muy abundante del pelo del cuero cabelludo, hasta quedar calvos casi por completo; el cabello se caía suavemente al tirarlo y sin dolor. El extremo del pelo, visto al microscopio, no presentaba bulbo. No se observó caída del pelo en otras regiones. Antes de terminar la caída total, empezó a salir cabello nuevo.

Para el autor, la acción del "coco de mono" fue proporcional a la cantidad de semillas ingerida y a su permanencia en el tubo digestivo, pues los que las vomitaron casi no experimentaron sus efectos; los trastornos

que se observaron fueron náuseas, ardor y dolor en el trayecto esofágico y estómago ; diarrea ; trastornos nerviosos con mareo fuerte ; pero la acción más interesante fue la caída del cabello y su crecimiento posterior, como si hubiera sido inhibido el bulbo piloso mientras duró la acción de las sustancias contenidas en el "coco de mono".

Todos las pacientes señalaron que las almendras tenían un sabor muy agradable y que, a medida que las comían, les provocaba comer más. El olor que tenían los pacientes en el aliento era el mismo que presenta la fruta, que, al modo de ver del autor, se parece a un olor aliáceo, muy desagradable.

Menciona también que las almendras son muy ricas en aceite. Los naturales de esa región conocen muy bien la acción de esos frutos y nunca los comen. Tampoco tuvo noticias de algún animal que comiese estas semillas, las cuales, una vez que caen al suelo, germinan, produciendo un gran número de pequeñas plantas, alrededor de la que les ha dado origen. Generalmente, la época de los frutos es de marzo a mayo.

3. *Observación de F. Kerdel-Vegas*^{35.36}: El 5 de mayo de 1962 examinó a un hombre blanco, de 54 años de edad, nacido en Italia y radicado en Caracas desde hacía muchos años, quien consultó por presentar abundante caída del pelo que atribuye a la ingestión de "coco de mono". Refiere que el Viernes Santo, 20 de abril de 1962, desdeñando las advertencias del baquiano, comió 70-80 almendras de "coco de mono" mientras estaba de cacería en el Hato Garzón en la parte sur del estado Portuguesa. Esa misma tarde sintió nerviosismo e inquietud, y por la noche, a las 8 p.m. aproximadamente, presentó escalofríos violentos, seguidos de fiebre y delirio. Simultáneamente tuvo una diarrea de unas 8 evacuaciones de heces líquidas, que aparentemente no contenían sangre, moco, ni pus, y persiste -al igual que la fiebre- durante 36 horas. Al desaparecer el síndrome febril y diarreico, persistió el estado nauseoso marcado, sin vómitos pero con anorexia pronunciada y artralgia de todas las articulaciones. También presentó dolor en la espalda, hacia la base del tórax, en el lado izquierdo. Desde entonces, además de la anorexia, acusó molestias gástricas al ingerir alimentos, con sensación de pesantez. A los 8 días de haber comido las almendras, comenzó la caída del cabello y del vello del cuerpo de manera violenta, que fue aumentando en los días que siguieron. Todo este tiempo presentaba un gran decaimiento. El día jueves 3 de mayo, notó un reborde violáceo en la parte proximal de las láminas ungueales, que desapareció luego gradualmente en los 3 días siguientes. Los primeros días perdió gran cantidad de pelos de las axilas, pecho, pubis y muslos; en el momento en que el paciente fue examinado ya no se caían en esas zonas. También se le cayó pelo del bigote, cejas y pestañas. Notó la disminución del pelo de la barba, cuando se afeitaba. Durante el mes que siguió a la intoxicación el paciente perdió 4 Kg. de peso. Refirió que después de haber comido las almendras, y durante una semana, notó un aumento de la diuresis, sin otras alteraciones urinarias concomitantes.

El examen médico general reveló solamente anorexia, tos seca matinal, nerviosidad, angustia, marcada depresión psíquica, crisis frecuentes de cólera -manifestaciones éstas que databan de hacía muchos añosEl paciente también refirió tener problemas severos que agravaban estos síntomas nerviosos. Entre los antecedentes familiares sólo cabe mencionar que la madre sufrió un infarto del miocardio; una hermana había

tenido litiasis renal; otra hermana sufría de jaquecas; y el padre sufrió ulcus péptico y era aparentemente "muy nervioso". El examen físico reveló un paciente adulto con buena apariencia general, tipo normolíneo, estatura 1,83 cm.; peso 75,5 Kg.; tensión arterial 130/70; pulso 70 p. por minuto. El examen de la cabeza sólo reveló una alopecia difusa sin otras alteraciones (Figura 20). Ojos y fondo de ojos normales. Orofaringe : prótesis total. Oídos: tapón de cerumen en oído derecho. Cuello: normal, no se palpa tiroides, no había adenopatías. Tórax: normal. Abdomen se aprecia sensibilidad discreta a la palpación del marco cólico. Miembros: normales. Genitales, ano-recto y próstata : normales. Telerradiografía de tórax : normal. Electrocardiograma: normal⁴⁰.

El examen histopatológico de una biopsia tomada con un "punch" de 6 mm. de diámetro, en la región témporo-parietal derecha del cuero cabelludo, reveló: "Aparentemente no hay pelos en la fase telógena en las secciones. En los cortes teñidos que se enviaron, los pelos estaban

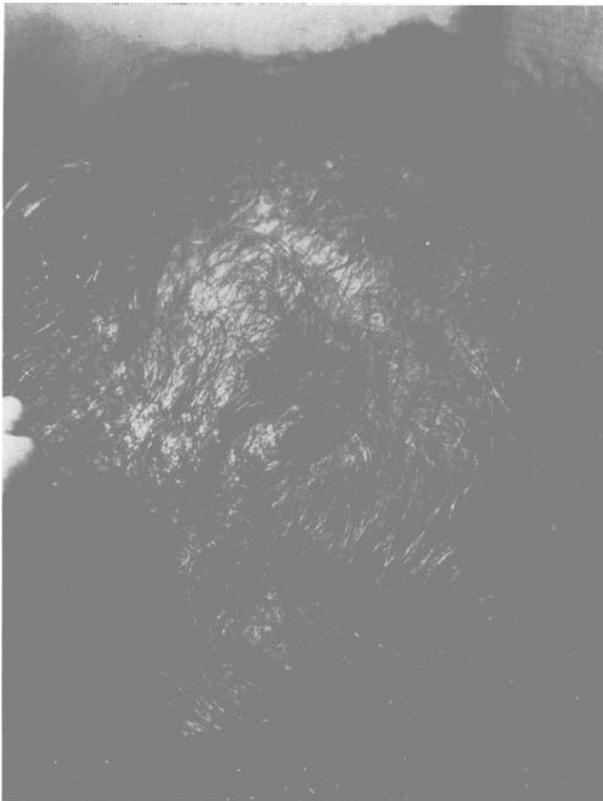


Fig. 20.-Primera observación personal. Puede observarse alopecia parcial de las regiones parietales del cuero cabelludo, donde verdaderos mechones de pelo se desprendían sin dificultad, al tirarlos suavemente³⁵

cortados oblicuamente, pero las secciones no-teñidas, coloreadas luego con PAS y azul de alcian presentaban folículos de apariencia normal ⁴⁵.

El autor envió láminas histopatológicas del mismo espécimen a autoridades internacionales en patología del pelo, tales como los Dres. A. Kligman, W. F. Lever y A. W. Kopf, quienes confirmaron los hallazgos anteriormente descritos por H. Montgomery.

Los exámenes de laboratorio practicados revelaron : Hematíes 4.800.000. Hb 14,28. Hematocrito 49%. Leucocitos 7.400. Eosinófilos 3. Cayados 3. Segmentados 56. Linfocitos 33. Monocitos 5. Eritrosedimentación 2 mm. la primera hora, y 6 mm. en la segunda hora, con un índice de Katz de 2,5 mm. Tiempo de sangría, 0 minuto 50 segundos. Tiempo de coagulación, 3 minutos 40 segundos. Plaquetas 310.000. No se observaron células LE. VDRL y Kahn negativos. Urea 39 mg.%. Glicemia 89 mg.%. Colesterol 205 mg. %. Lípidos totales 535 mg. % . Bilirrubinemia 0,6 mg. % ; directa 0,2 mg. % , indirecta 0,4 mg. % . Hanger negativo. Timol 2,1 u. M. L. Ucko negativo. Heces negativas. En orina trazas de albúmina y piocitos, 8 por campo, en sedimento y mucina. Una determinación espectroscópica de talio en orina, arrojó resultados negativos.

El 28 de mayo ya se observó una abundante repoblación pilosa, y el 11 de junio la apariencia era completamente normal.

Finalmente, L. Dao ^{18,19} describió dos casos de posible alopecia areata extensa, de aparición simultánea en dos hermanos y anotó la posibilidad de que haya sido ocasionada por la ingestión de "coco de mono", aunque nada se pudo establecer en la anamnesis.

V. OBSERVACIONES CLÍNICAS INEDITAS

1. *Observación de P. Oropeza* ⁴⁹: El mes de febrero de 1964 fue hospitalizado un niño intoxicado por la ingestión de "coco de mono" en el Departamento de Pediatría del Hospital Universitario de Caracas, la información que reproducimos nos fue gentilmente suministrada por el Profesor Pastor Oropeza a quien manifestamos nuestro agradecimiento por permitirnos publicar esa observación.

El día 13 de febrero de 1964 por la mañana fue visto en Triage Pediátrico un niño de 2 años de edad y 10,3 Kg. de peso, por presentar vómitos. El médico que lo examinó no encontró causa aparente para los vómitos y le indicó Largactil. A las 2 p.m. del mismo día volvió al hospital debido a que los vómitos habían continuado. A su ingreso presentaba decaimiento general, palidez, ojos hundidos, y mucosa oral seca; no había fiebre. Se le indicó rehidratación intravenosa y quedó en observación. Con este tratamiento el niño estuvo aproximadamente 20 horas sin vomitar, mejoró su estado general y desaparecieron los signos de deshidratación. A las 9 p.m. del día 14 de febrero se reinició la alimentación oral con solución 0,30% glucofisiológica y leche semidescremada, que al principio fue bien tolerada, pero 5 horas más tarde reaparecieron los vómitos, que esta vez fueron observados por el médico: vómitos frecuentes, precedidos de náuseas, de aspecto fluido y de coloración amarilla. Un nuevo examen físico realizado para tratar de investigar la causa probable del vómito fue negativo. Se suprimió la ingesta oral y se reinició la rehidratación intravenosa. Pese a la misma, el niño comenzó a desmejorar, y apare-

cieron signos de deshidratación y acidosis. También se comenzó en este momento la administración de Largactil, en dosis de 5 mg. cada 8 horas (sólo se administró una dosis, debido a las malas condiciones posteriores). El día 15 de febrero, dos días después de su ingreso, se hizo un nuevo interrogatorio a los familiares, y se logró averiguar que el niño había ingerido semillas de "coco de mono". En este momento el niño se encontraba en muy malas condiciones generales : obnubilación con crisis ocasionales de excitación; taquicardia con más de 200 pulsaciones por minuto, disnea con polipnea de 90 respiraciones por minuto, con aleteo nasal ; hepatomegalia de 3 cm. debajo del reborde costal, ingurgitación yugular, tensión arterial Mx 90, Min. ?. Se indicó digitalización con Lanatósido C y administración de oxígeno en tienda. El electrocardiograma mostró I. C. y acostamiento OT inespecífico. La radiografía de tórax mostró campos pulmonares claros y discreto aumento de la sombra cardíaca. Otros exámenes de laboratorio revelaron, hematología : 11.850 glóbulos blancos, Hb 11,9 gm.%, hematocrito 37%. Fórmula: Segmentados 38, linfocitos 62. Orina: Proteína positiva, células epiteliales planas, leucocitos y piocitos escasos y cilindros granulosos. En química sanguínea, reserva alcalina 30 vol.%, Na 135 mEq/l, Cl 78, K 4,6.

El día 16 de febrero el niño continuó obnubilado, febril, con taquicardia de 160-170 pulsaciones por minuto, disneico, apareció cianosis peribucal discreta, y los vómitos persistían. Se consultó el caso con el Departamento de Cardiología, y el médico residente aconsejó continuar el tratamiento digitálico. El niño siguió desmejorando y falleció a las 6:30 p.m. No se hizo autopsia.

Posteriormente se pudo establecer que aunque el niño no había salido de Caracas, ingirió unas semillas de "coco de mono" provenientes de Valle de la Pascua, estado Guárico.

2. *Otras observaciones inéditas:* El día 17 de junio de 1964 fuimos consultados por dos pacientes, referidos por el doctor Félix Carpio G. ⁶², quienes presentaron intoxicación aguda y subsiguiente caída del pelo después de la ingestión de semillas de "coco de mono" el día 11 de febrero de 1964, en un sitio próximo a San Fernando de Apure.

Caso 1 : Mujer joven de 24 años de edad, blanca, nacida en Alemania, de profesión laboratorista, quien el día mencionado encontrándose de excursión en esa zona del llano, ingirió 22 almendras de "coco de mono" (20 recogidas del suelo y 2 extraídas de un fruto que arrancó del árbol y por lo tanto "frescas"). La paciente pudo describir exactamente la localización del árbol cuyas semillas comió, que se encuentra en la ribera norte del río Apure (estado Guárico) a unos 5 Km. al oeste del puente sobre el río, en la proximidad de la desembocadura del río Portuguesa en el Apure. Tres horas después de haber comido las semillas comenzó a vomitar durante 7 horas seguidas; al comienzo tuvo vómitos cada cuarto de hora y luego se hicieron más frecuentes hasta cada 2 minutos; el contenido de los vómitos fue alimenticio primero y luego aparentemente bilioso. Simultáneamente sufrió convulsiones y cefalea. A la 1 p. m. de esa misma noche ingresó al hospital de San Fernando de Apure donde le aplicaron dos inyecciones para los vómitos y solución gluco-fisiológica intravenosa, dejando de vomitar y sintiéndose mejor. Al día siguiente por la mañana fue dada de alta, sintiéndose muy débil y presentando cefalalgia. A los 5 días comenzó a notar espasmos musculares nocturnos en las pantorrillas que

duraron unas 2 semanas, desapareciendo gradualmente. Se sintió deprimida durante 2 meses. El 18 de febrero, 7 días después de la intoxicación aguda, notó en forma repentina que se comenzaba a caer el cabello por mechones, al comienzo en la región temporal derecha y luego en forma difusa en iodo el cuero cabelludo y al cabo de 8 días quedó completamente calva. Excepto por algunos pelos aislados en la región parietal, obligándola desde entonces a usar peluca. No presentó caída de pestañas, cejas, ni vello axilar, ni pubiano, ni del resto del cuerpo. En las uñas notó las primeras alteraciones tres días después de la ingestión de las almendras, como una estría transversal blanca que iba avanzando hacia la porción distal con el crecimiento de la uña, y al llegar al borde libre se fraccionaba y la uña se partía; esto sucedió en idéntica forma en todas las uñas de las manos, pero no hubo alteraciones en las uñas de los pies. En el momento del examen, 4 meses y 1 semana después de la intoxicación aguda, la paciente lleva peluca todo el tiempo, ya que aunque el cabello comenzó a crecer a los dos días de haberse completado el *defluvium*, mide solamente 45 mm. de largo (Figuras 21-22). No hubo modificaciones en cuanto al grueso del cabello o en cuanto a la densidad de la población pilosa, pero lo encuentra ligeramente más oscuro. No hubo hipersensibilidad del cuero cabelludo en ningún momento de la evolución del proceso.

Caso 2: En el mismo sitio y en el mismo día, el compañero de viaje del caso 1, hombre blanco de 38 años de edad, nacido en Suiza, con 17 años de residencia en Venezuela y fotógrafo de profesión, ingirió aproximadamente 15 a 20 almendras de "coco de mono" recogidas en el suelo y 1 "fresca" extraída de un fruto, a las 3 p.m. junto con el almuerzo, y a las 5 p.m. comenzó a sentir molestias gástricas de "intoxicación alimenticia" o "indigestión". Al cumplir las 9 horas de la ingestión, presentó diarrea moderada de heces blandas, con dolores cólicos intensos que lo llevaron a un estado que el paciente define como de "semi-inconsciencia" (pesantez de los miembros, obnubilación marcada, visión borrosa, pérdida de la noción del tiempo), sin embargo le fue posible caminar unos pasos. Este cuadro tuvo una duración de 12 horas, durante las cuales estuvo hospitalizado. La diarrea duró el mismo lapso, presentando 3 ó 4 evacuaciones. Al día siguiente se sintió prácticamente asintomático, con solamente cansancio y malestar gastrointestinal. A los 2 ó 3 días comenzó a sentir calores nocturnos y espasmos musculares nocturnos en la cara posterior de las piernas, tobillos y plantas de los pies. El día 18 de febrero, el mismo día que su compañera de viaje, notó que se le comenzaba a caer el pelo de la barba de paciente lleva normalmente barba poblada y bigote), y luego la caída del pelo se extendió a todo el cuero cabelludo, y al vello del pecho, abdomen, pubis, axilas, y en menor grado a las extremidades, estimando que llegó a presentar una alopecia del 985/0 de los pelos en el cuero cabelludo y barba, y de un 70% en el pubis. El *defluvium capillorum* respetó las pestañas y cejas. Notó apenas alguna fragilidad ungueal semanas después de la ingestión de las almendras. El proceso de la caída del pelo se completó en una semana y en seguida comenzó a notar la repoblación pilosa. En este momento refirió prurito en las regiones temporales y occipital del cuero cabelludo al mover o rotar la cabeza.

Entre los antecedentes de importancia figuraban : litiasis renal hacía 15 años, con infección renal secundaria y eliminación de arenilla. Hacia 4 años, por posible "neurodermatitis circunscrita" en la región pretibial izquierda, recibió aplicaciones de radioterapia superficial, y posteriormente le fue practicada resección cutánea de dicha zona.

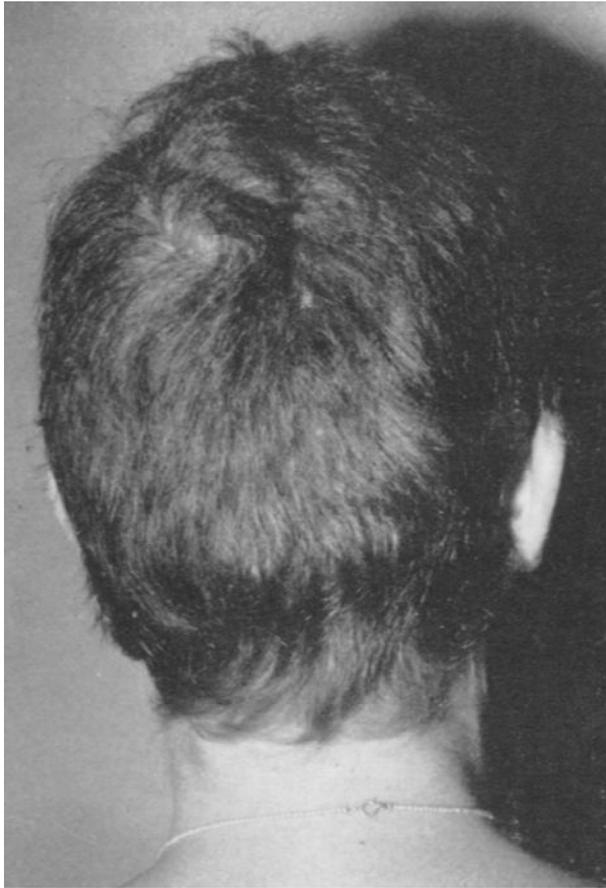


Fig. 21. Paciente 1, a los cuatro meses después de la intoxicación y subsiguiente caída de todo el cabello por la ingestión de almendras de "coco de mono", presenta total repoblación en el cuero cabelludo. El pelo mide uniformemente 45 mm. de longitud, y todavía usa peluca.

En el examen físico ¹ se encontró tensión arterial 140/100; pulso 78 pulsaciones por minuto; peso 76,4 Kg.; talla 1,78 m. Cabeza y cuello dientes, faltan piezas; prótesis parcial. Faringe normal. No hay lesiones en mucosa oral. En el fondo de ojo la retina aparece normal, relación arteriovenosa normal, no hay signo de Gun. En el cuello no se palpan adenopatías. No hay latidos anormales en cuello. Tiroides dentro de límites normales. Tórax : auscultación pulmonar normal. En el corazón, ritmo regular de 74 pulsaciones por minuto; no hay soplos; segundo tono aórtico reforzado. No hay extrasistolia. Abdomen.: blando, depresible y no doloroso. El hígado con su borde superior en el sexto espacio intercostal derecho, y el borde inferior no se palpa. El bazo no se palpa. No hay edemas en miembros inferiores, ni edemas ocultos. Reflejos osteotendinosos y cutáneos normales y simétricos. Arterias periféricas bien. Cicatriz residual de lesión ya mencionada en la región pretibial izquierda.

A los 2 y medio a 3 meses ya el pelo tenía su aspecto natural (Figura 23), de la longitud a que acostumbra usarlo.

Es oportuno mencionar aquí, que el paciente refirió haber comido semillas de "coco de mono" en múltiples oportunidades en el curso de los pasados años. En su trabajo ha recorrido casi todo el país, y específicamente recordaba haber ingerido almendras de "coco de mono" en una región vecina a El Baúl, estado Cojedes (una sola almendra, hacía 9 años) ; en La Urbana, estado Bolívar (3 ó 4 almendras, hacía 6 años), y finalmente, en la vecindad de San Fernando de Apure (en sitio cercano al lugar donde sufrieron la intoxicación), comió junto con un amigo, unas 20 almendras cada uno, en 1961, sin que sucediera nada. Posteriormente recogió almendras provenientes del mismo árbol y mantenía cierta cantidad en su casa, que comía a menudo, y osbequiaba a sus relacionados, sin haber presentado hasta la oportunidad aquí mencionada, ningún tipo de problemas.

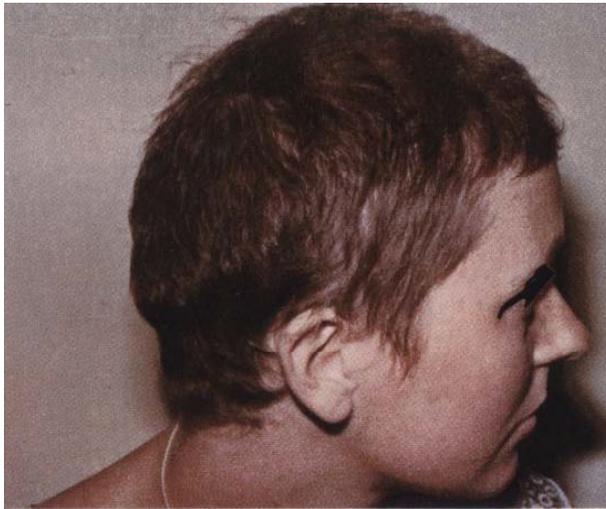


Fig. 22. Fotografía lateral de la cabeza de la misma paciente 1, donde se observa repoblación completa del cuero cabelludo, pero el pelo es todavía muy corto, después de su caída total a los 7 días después del 11 de febrero de 1964, en que ingirió las nueces de "coco de mono".

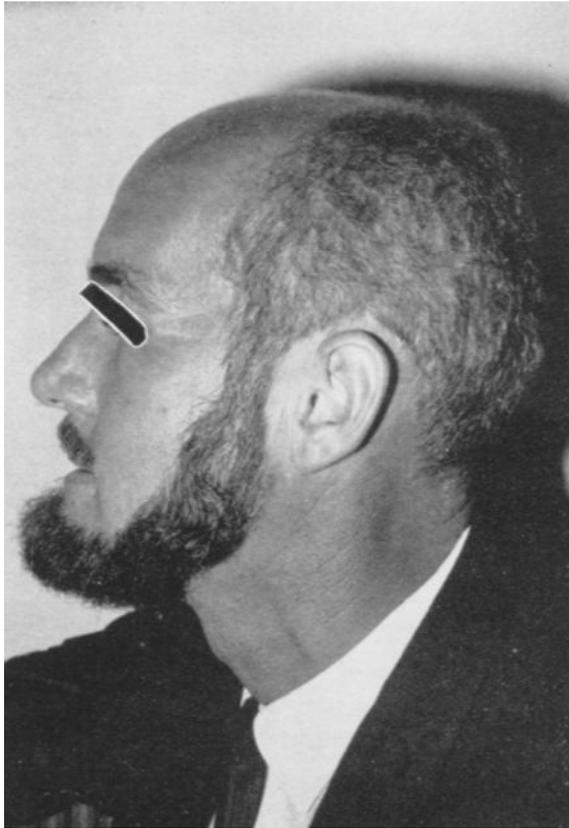


Fig. 2.3. Paciente 2, quien se intoxicó el día 11 de Febrero de 1964, perdiendo lo que le queda de cabello y todo el pelo de la barba. La foto tomada el día 18 de Junio de 1.964, muestra repoblación total de las áreas señaladas, debido a que la longitud del pelo es corta.

VI. EXPERIMENTO I:

EFFECTO DEPILATORIO EN ANIMALES Y ESTUDIO

HISTOPATOLOGICO

La administración oral de almendras de "coco de mono" ha sido descrita previamente ^{35 36}, pudiéndose demostrar la actividad inhibidora del folículo piloso, usando un extracto crudo de 'las almendras en ratones blancos, previamente depilados en el dorso, con el objeto de provocar una nueva "onda" de crecimiento piloso, en cuya fase anágena, se puede Evidenciar dicho efecto. Debido a que el ratón pertenece a aquel grupo de mamíferos cuyo "ciclo piloso" presenta una actividad más o menos simultánea en todos los folículos pilosos, y desde que una sustancia inhi-

bidora del crecimiento del pelo actúa presumiblemente, en forma exclusiva, en la fase de crecimiento activo, es decir, en el anágeno, o sea, en plena proliferación, con gran cantidad de mitosis en las papilas pilosas ; si la administración del producto no coincide con esta fase del "ciclo piloso", será imposible observar ninguna acción. Es por ello que se hace indispensable usar esa modalidad en la técnica, que consiste en depilar con pinzas, un área redondeada del tamaño de medio real (Bs. 0,25), o sea de 1,5 cm. de diámetro, en el dorso del animal, en la zona inmediatamente posterior a la cabeza, y así, provocar artificialmente -mediante este estímulo- un nuevo ciclo de crecimiento piloso que nos garantiza que todos los folículos depilados entran inmediatamente en crecimiento activo, es decir, en la fase de anágeno. Esto se consigue tanto en ratones, como en ratas, hamsters y conejos y permite realizar una observación lógica, al utilizar sustancias inhibitoras de la queratinización.

En el estudio realizado por Kerdel-Vegas ^{35 36} pudo observarse la cesación del crecimiento piloso mientras el animal estuvo siendo alimentado con el extracto crudo de almendras, en contraste con la repoblación pilosa normal en el animal de control, después de un lapso de 13 días (Figura 24).

También pudo observarse la marcada pérdida de peso del animal alimentado con "coco de mono", que desafortunadamente, lleva consigo la muerte del animal, a menos que se cambie el régimen alimentario.

Una vez que se tuvo disponible un extracto purificado activo, se procedió a un estudio completo del efecto depilatorio en ratones albinos y al estudio autóptico de los animales sometidos a la acción de esta sustancia.

ESTUDIO HISTOPATOLOGICO DE LOS ANIMALES SOMETIDOS A LA ACCION DEL EXTRACTO ACUOSO DE "COCO DE MONO"

Con el objeto de determinar los efectos morfológicos sobre el organismo, del principio activo del "coco de mono", contenido en su extracto acuoso -como pudo ser demostrado por su actividad citotóxica-, se sometieron varios grupos de ratones a la acción de este material, mediante inyecciones diarias intraperitoneales, en concentraciones variables. Se escogieron ratones del mismo crío, tratando de que tuvieran condiciones semejantes en lo que respecta a edad, peso, color (albinos) y sexo, separándolos en 6 grupos de 5 ratones cada uno. Las concentraciones utilizadas fueron las siguientes:

1° grupo.	1	ml. por kg. de peso de la solución al 1:1000.
2° grupo.	5	ml. por kg. de peso de la solución al 1:1000.
3° grupo.	10	ml. por kg. de peso de la solución al 1:1000.
4° grupo.	100	ml. por kg. de peso de la solución al 1:1000.
5° grupo.	200	ml. por kg. de peso de la solución al 1:1000.
6° grupo.	control.	

Estos ratones fueron sometidos a inyecciones intraperitoneales diarias del extracto acuoso de "coco de mono", en concentraciones variables de acuerdo con los grupos en que fueron divididos, y calculando la dosis individual de acuerdo con el peso inicial de cada animal, durante 30 días, en que fueron pesados diariamente, al final de los cuales se sacrificaron para su estudio autóptico. Los animales que murieron durante el curso de la observación también fueron estudiados histopatológicamente.

Durante la experiencia los ratones fueron mantenidos en cajas separadas para cada grupo y alimentados en forma normal con el comprimido dietético standard ("Ratarina") y frutas y vegetales frescos, y en condiciones de temperatura ambiental.

Terminado el tiempo de observación los animales fueron sacrificados, previa anestesia con éter.

Se practicó la autopsia cuidadosa y sistemática de cada uno de los animales, incluso de aquellos muertos durante el curso de la experiencia. Se tomaron muestras representativas de los diferentes órganos : piel, pulmón, corazón, intestino, hígado, páncreas, bazo, ganglios linfáticos, médula ósea, timo, suprarrenales, ovarios, testículos riñón y ojos.

El material de piel fue obtenido en diferentes etapas del experimento a intervalos variables después del inicio del mismo; a los 13, 18 y 22 días respectivamente, se tomaron biopsias del dorso del animal, en los sitios previamente depilados con pinzas, para el estudio comparativo de la repoblación pilosa. Y, finalmente, también se estudió la piel en el momento de la autopsia.

En el curso de la experiencia murieron 7 ratones pertenecientes a los diferentes grupos antes mencionados, de los 25 ratones sometidos a la acción del extracto acuoso de "coco de mono".

Todo el material histológico fue fijado en formol al 10% por un mínimo de 3 días. Se incluyeron diferentes cortes en parafina, siguiendo la técnica de rutina. La coloración usada fue la de hematoxilina y eosina. Todos los cortes fueron examinados microscópicamente para el análisis crítico.

Resultados

1. Observación *in vivo*. El examen diario de los ratones durante el curso de la experiencia reveló algunas alteraciones dignas de mención.

En el grupo 1, todos los animales perdieron peso en el curso de la experiencia.

Sin habérselo propuesto así, se incorporaron accidentalmente dos ratones hembras, jóvenes, en estado de gravidez, lo que fue apercibido sólo en el curso de la observación, habiendo tenido cría a los 9 y 16 días respectivamente del inicio del experimento. Los recién nacidos tenían aspecto normal.

En el grupo 2, dos de los animales perdieron peso. Uno de los ratones presentó alopecia parcial en la vecindad del ojo izquierdo. (Figuras 25-26).

En el grupo 3, en dos de los ratones, a los 14 días del inicio del experimentado pudieron observarse cambios importantes en su apariencia ex

terna y en su conducta. Estos animales mostraron adinamia, tristeza, anorexia, pérdida del brillo del pelo, orina pardusca y cambio del color de los ojos, que se tornó, de su aspecto normal rojo vivo, en una tonalidad pardusca. Estos dos animales perdieron peso y murieron a los 17 y 28 días respectivamente del inicio de la experiencia. Los otros animales de este grupo no presentaron variaciones ponderales. Un ratón hembra tuvo cría el 9º día de la experiencia; y a los pocos días uno de los recién nacidos presentó retardo del crecimiento y ausencia de población pilosa, de marcado contraste con los cuatro hermanos cuyo desarrollo pondoestatural y piloso estuvo comprendido dentro de límites normales.

En el grupo 4 se observó ausencia de la repoblación pilosa en el área depilada del dorso en dos de los animales, en estas zonas se tomó biopsia a los 23 días del inicio del experimento. Uno de estos animales murió a los 24 días, y había perdido peso previamente en forma progresiva. El otro fue sacrificado el día 29, en vista de sus pésimas condiciones generales (Figuras 27 y 28).

En el grupo 5, se murió un animal a los 18 días y se sacrificaron dos a los 25 días, debido a sus malas condiciones. Estos tres animales habían perdido peso de modo progresivo. Los otros dos animales también habían perdido peso. Las alteraciones observadas fueron de adinamia, cambio del color de los ojos, que adquirieron un tono pardo, pérdida del brillo del pelo, anorexia, etc.

En el grupo 6, o sea el grupo de control, pudo comprobarse el aumento pondoestatural normal de estos animales, y la repoblación en el sitio depilado en el dorso, en forma total a partir del undécimo día.

2. Estudio histopatológico de las biopsias y autopsias

a) Biopsias:

El estudio histopatológico de la piel en biopsias tomadas en los sitios previamente depilados con pinzas, después de los 11 días, en que la repoblación pilosa en los animales de control es prácticamente normal, reveló alteraciones variables en su intensidad, en cuanto a la restitución de los anexos, en los animales sometidos a inyecciones del extracto acuoso de "coco de mono". En general puede decirse que el grado de inhibición del crecimiento piloso guarda relación con la concentración de la sustancia administrada. Con propósitos didácticos y de esquematización de esta presentación, se clasificaron las alteraciones observadas en seis grados diferentes, de acuerdo con la intensidad, que varían, desde alteraciones mínimas, con discreta disminución del número de folículos pilosebáceos, hasta el grado 6 donde se observa una total ausencia de anexos cutáneos.

En el grado 1 (Figuras 33 y 34) se observa disminución de folículos, y su completa desaparición del tejido celular subcutáneo, donde están normalmente presentes.

En el grado 2 (Figuras 35 y 36) esta disminución es aún más pronunciada.

En el grado 3 (Figura 37) se hace más manifiesta la disminución de los folículos presentes.

En el grado 4 (Figura 38) todavía se observan menos folículos pilosos, y no hay glándulas sebáceas presentes.

En el grado 5 (Figuras 39 y 40) sólo quedan algunos vestigios de folículos pilosos y no se observan glándulas sebáceas.

En el grado 6 (Figuras 41 y 42) no quedan anexos de ningún tipo.

Las alteraciones más pronunciadas se observaron en aquellos ratones sometidos a las inyecciones más concentradas del principio activo, es decir en los grupos 3, 4 y 5, aunque se pudieron identificar ciertas alteraciones en todos los grupos.

b) Autopsias:

Tal como se asentó anteriormente todos los ratones que llegaron al final de la experiencia fueron sacrificados el día 30, y todo el material fue estudiado simultánea y comparativamente con el de aquellos ratones muertos previamente, como ya fue mencionado.

I. Aspecto macroscópico de la autopsia: Desde el punto de vista macroscópico algunos animales presentaron un hallazgo importante, se trataba de múltiples áreas blancuzcas, de 1 a 3 mm. de diámetro máximo, localizadas en la superficie externa y del corte del hígado. Estas áreas tenían bordes netos, que destacaban del resto del parénquima pardo-vinoso normal. Estas observaciones estuvieron limitadas a la mayor parte de los animales de los grupos 3, 4 y 5. El resto de los órganos cuidadosamente examinado no presentaba alteraciones dignas de mención.

II. Aspecto microscópico

Piel: Se observaron alteraciones semejantes a las descritas en la sección correspondiente a biopsias.

Pulmón: Algunos animales, pertenecientes a los grupos 3 y 4, presentaron áreas de edema pulmonar intralveolar. Se trataba de un material anhisto, débilmente eosinofílico, que llenaba los espacios alveolares. Véanse las Figs. 43-44. Otros animales, pertenecientes a los grupos 2 y 4, presentaban focos hemorrágicos recientes, y algunos, con signos de evolución, evidenciados por la presencia de pigmento hemosiderínico. Estos focos de hemorragia en algunos campos llegaban hasta la inundación alveolar completa; su localización era variable, pero con cierto predominio peribronquial. (Ver la Figura 45).

Hígado: El hígado fue uno de los órganos con hallazgos más conspicuos, se trataba de focos necróticos, que ya se habían observado macroscópicamente. Su aspecto histológico presentaba grados de intensidad variable, tal como puede observarse en la secuencia de las microfotografías; comenzando por lesiones que consideramos como iniciales y mínimas, de pequeños focos de necrosis, con conservación de la arquitectura hepática; la tinción nuclear estaba completamente perdida y todo el foco tomaba un color eosinofílico homogéneo; los hepatocitos tenían el aspecto de "células fantasmas". (Figuras 46-47). Lesiones un poco más avanzadas, de moderada intensidad, eran de mayor extensión, de localización preferentemente subcapsular, tenían un borde geográfico bien definido, contrastando con el tejido hepático normal circunvecino. Es importante destacar la ausencia de inflamación en estas áreas. La arquitectura hepática dentro del foco necrótico perdía sus características. (Figura 48).

Lesiones mucho más avanzadas de necrosis se caracterizaban por tener un reborde periférico de leucocitos y detritus nucleares, con un centro de aparente reabsorción constituido por áreas pseudoquísticas sin ningún contenido. La arquitectura hepática está totalmente perdida en dicha área, y ni siquiera pueden verse cordones de células hepáticas con aspecto "fantasma" (Véanse las Figs. 49-50).

El resto del parénquima hepático mostraba su arquitectura lobular normal con una moderada congestión sinusoidal. Algunos núcleos de hepatocitos eran un poco grandes y con cierto hiperromatismo digno de mencionarse.

Estas observaciones fueron hechas en animales pertenecientes a los grupos 2, 3, 4 y 5.

Bazo: Esta víscera mostraba desorganización de su arquitectura, desaparición o disminución de los corpúsculos de Malpighio, con hiperplasia de la pulpa roja y de las células reticulares; pequeños focos de hemorragia y áreas focales de necrosis, así como zonas más extensas de una necrosis confluyente. Hallazgo curioso fue la presencia de células gigantes, multinucleadas, hiperromáticas y quizá pleomórficas, que destacaban en algunos campos, localizándose en el borde de lesiones necróticas; no se descarta la posibilidad de que puedan ser megacariocitos atípicos, aunque es improbable. (Ver las Figs. 51-52-53). Estas alteraciones se observaron en los grupos 2, 3 y 4.

Suprarrenales: En algunos cortes destacaba una congestión sinusoidal intensa, con predominio cortical. Se observó en un animal del grupo 2. (Obsérvese la Fig. 54).

El resto de los órganos estudiados: corazón, intestino, páncreas, ganglios linfáticos, médula ósea, riñón, ojos, ovarios y testículos, no presentaban lesiones aparentes. Es de destacar que la espermatogénesis no estaba inhibida en los animales bajo observación. Otro punto importante es que la médula ósea estaba activa, sin evidencia de esclerosis, ni fibrosis, ni de inhibición medular. No había ninguna lesión en el riñón, evidenciable en nuestro material.

Las alteraciones encontradas coinciden con las descritas en la literatura pertinente a la toxicología del selenio. La piel presenta disminución, hasta desaparición completa de los aparatos pilosebáceos. La víscera más atacada es el hígado, con focos necróticos visibles macroscópicamente. Las alteraciones de los pulmones, bazo y suprarrenales, fueron también importantes.



Fig. 24.- Primer experimento administrando semillas de "coco de mono" a ratones albinos como alimento. Se observan dos animales de la misma cría, por lo tanto de la misma edad, y que tenían aproximadamente el mismo peso. Ambos fueron depilados manualmente en el dorso, y mientras el de la izquierda recibía una alimentación exclusiva de semillas de "coco de mono", el de la derecha tenía una dieta normal. Al cabo de 13 días puede observarse la persistencia del área alopécica del dorso y notable pérdida de peso del ratón de la izquierda, en contraste con la repoblación pilosa y peso normal de su hermano de la derecha^{35, 36},

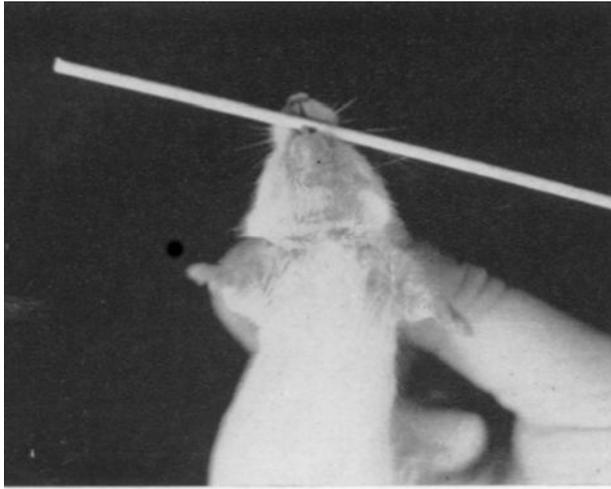


Fig. 25 y 26. Este ratón del grupo 2, presenta caída del pelo en sitios no depilados previamente, tanto en el cuello como en la vecindad de los ojos, a los ocho días de estar recibiendo inyecciones intraperitoneales diarias del extracto acuoso de "coco de mono".

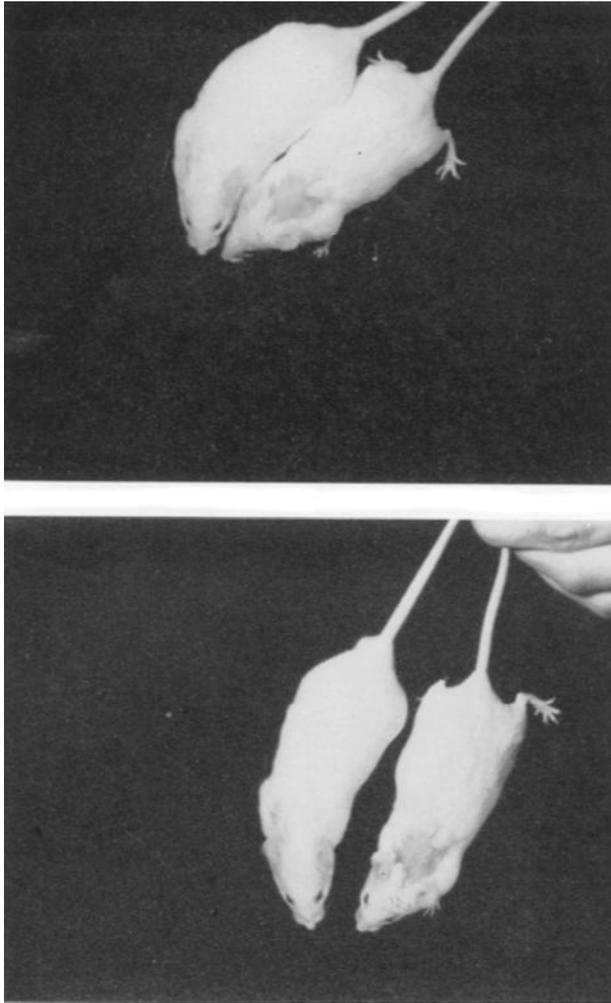


Fig. 27 y 28.-Dos fotografías de un ratón del grupo 4 (derecha), acompañado de un control (izquierda), donde se observa la inhibición de la repoblación pilosa del sitio previamente depilado del dorso, en el animal que esta recibiendo las inyecciones intraperitoneales diarias del extracto acuoso de "coco de mono", a los 23 días del experimento y de la depilación, en marcado contraste con el animal de control, cuya repoblación pilosa es total.

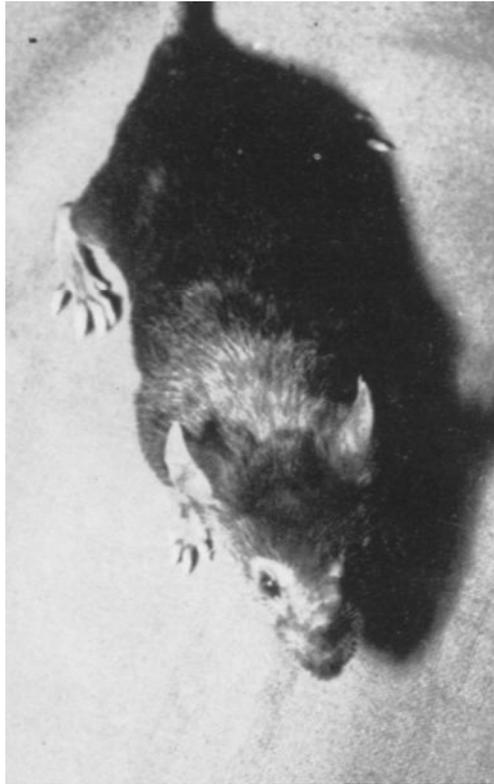


Fig. 29.-Se observa un ratón negro de 23 gm. de peso con una zona de alopecia en el dorso de la cabeza, en la zona vecina a la nariz y entre los ojos, después de 9 inyecciones diarias intraperitoneales de 8,28 ml. de extracto acuoso de "coco de mono" (0,92 ml. c/u).



Fig. 30.-Se observa un área limitada de caída del pelo del mismo ratón negro, hacia la parte anterior del tórax, vecina a la extremidad anterior derecha, después de estar sometido a inyecciones diarias del extracto acuoso de "coco de mono" durante 9 días.



Fig. 31.-Se puede ver el área alopécica vecina a la extremidad anterior izquierda, del mismo ratón negro que señalan las fotografías previas, después de la inyección intraperitoneal diaria del extracto acuoso de "coco de mono" durante 9 días.

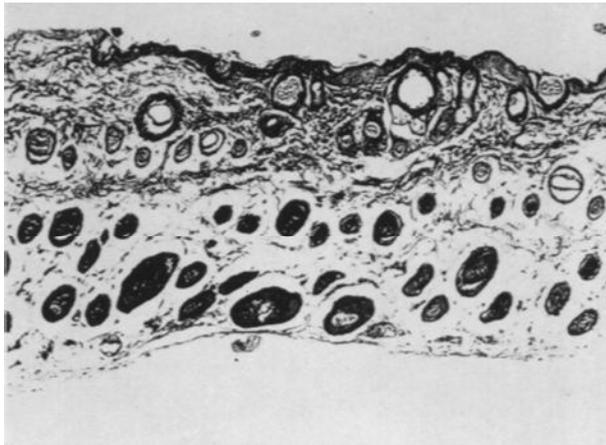


Fig. 32.-Biopsia del lugar previamente depilado a los 13 días, en un animal de control. Se observan gran número de folículos pilosos en la dermis y tejido celular subcutáneo. Coloración de hematoxilina y eosina (80x).

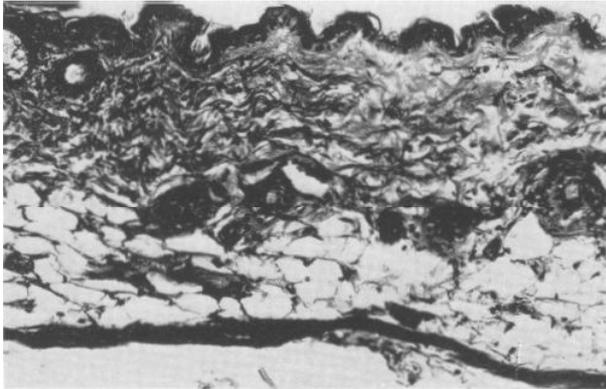
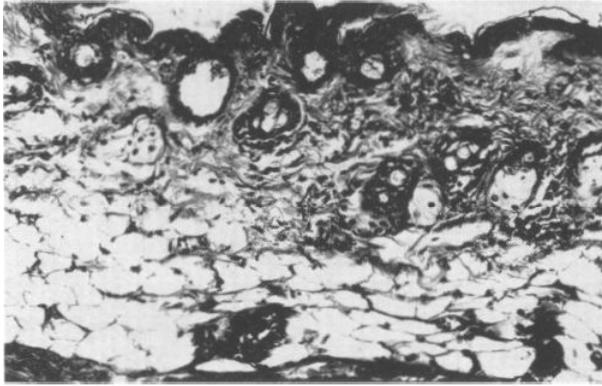


Fig. 33 y 34. Biopsia del sitio depilado a los 22 días en un ratón del grupo 1. Hay evidente disminución del número de folículos pilosebáceos, especialmente en el tejido adiposo. Coloración de hematoxilina y eosina (80x).

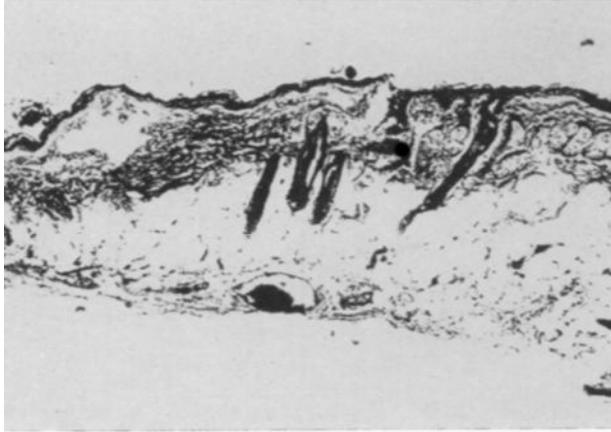


Fig. 35 y 36. Biopsias del sitio depilado a los 18 días de iniciado el experimento de dos ratones pertenecientes a los grupos 1 y 4 respectivamente. Hay aparente disminución del número de folículos pilosebáceos, más pronunciada en el segundo grupo enunciado. Coloración de hematoxilina y eosina (80x).

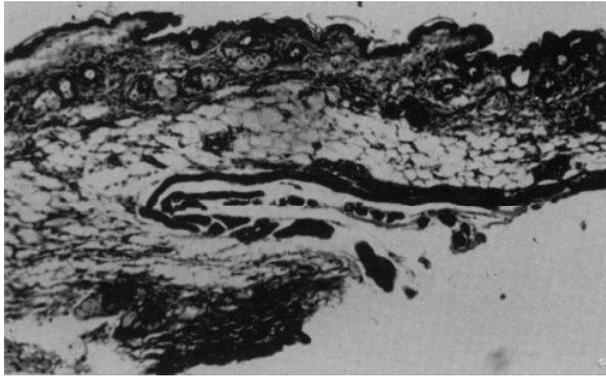


Fig. 37. La disminución del número de folículos es aún más manifiesta en este corte de un ratón del grupo 1, examinado en el sitio depilado a los 22 días del inicio del experimento. Coloración de hematoxilina y eosina (80x).

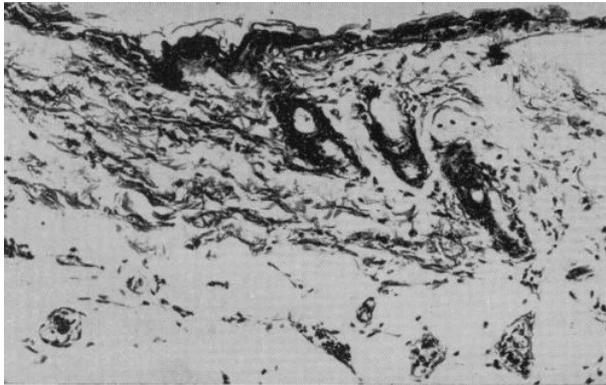


Fig. 38. Sólo quedan escasos folículos y hay una ausencia total de glándulas sebáceas en este material de un ratón del grupo 4, tomado del sitio depilado a los 22 días, Coloración de hematoxilina y eosina (80x).

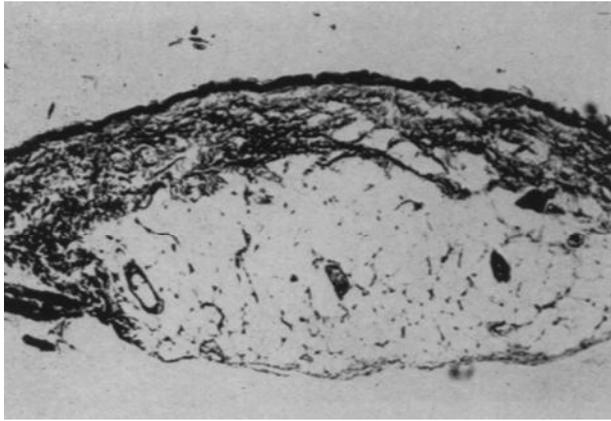


Fig. 39. Se observa el material cutáneo de la autopsia de un animal del grupo 4 sacrificado a los 23 días, presentando ausencia total de repoblación pilosa en el área depilada del dorso. En el examen histopatológico hay todavía muy escasos folículos atróficos.

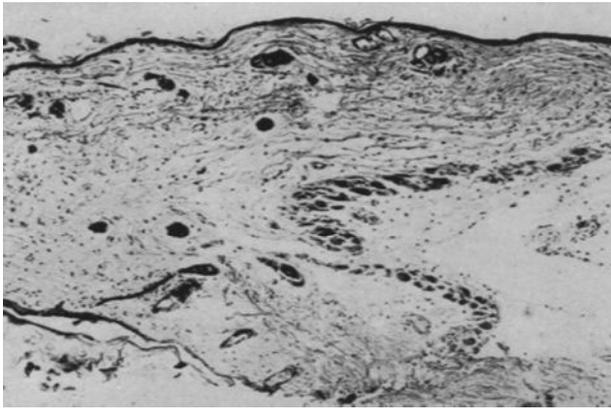


Fig. 40. Biopsia del sitio depilado de un ratón del grupo 4 a los 22 días, mostrando ausencia casi completa de folículos pilosebáceos. Coloración de hematoxilina y eosina (80x).

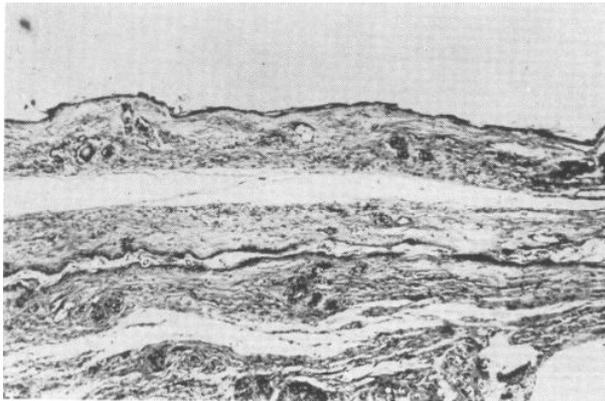
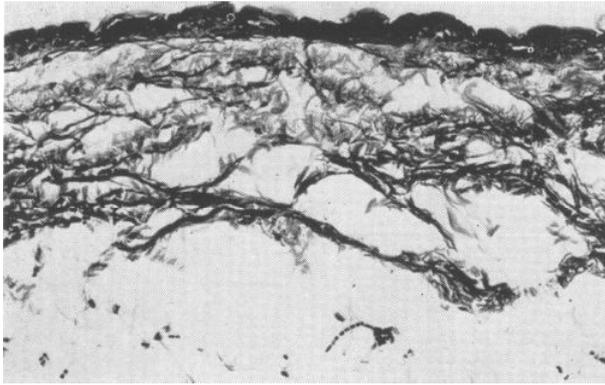


Fig. 41 y 42. Biopsias de los sitios depilados de ratones pertenecientes a los grupos 4 y 3, tomadas a los 22 días. Puede verse ausencia total de folículos pilosebáceos y atrofia de la epidermis. Coloración de hematoxilina y eosina (80x).

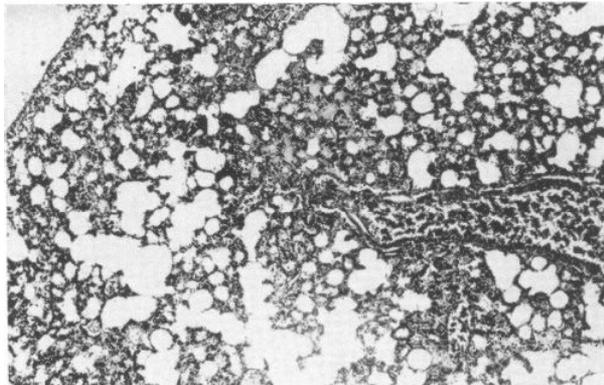
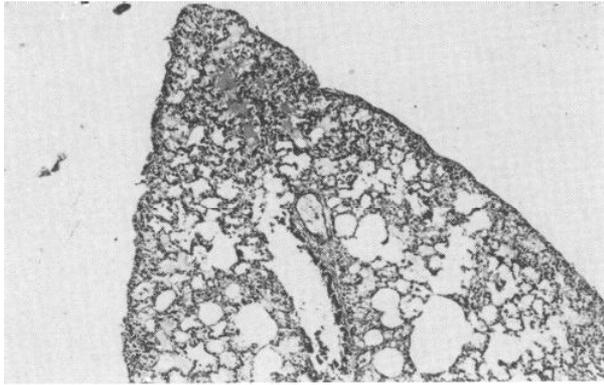


Fig. 43 y 44.- Corte de pulmón mostrando edema intralveolar. Nótese el material amorfo que llena los alvéolos; no hay reacción inflamatoria visible. Coloración de hematoxilina y eosina (80x).

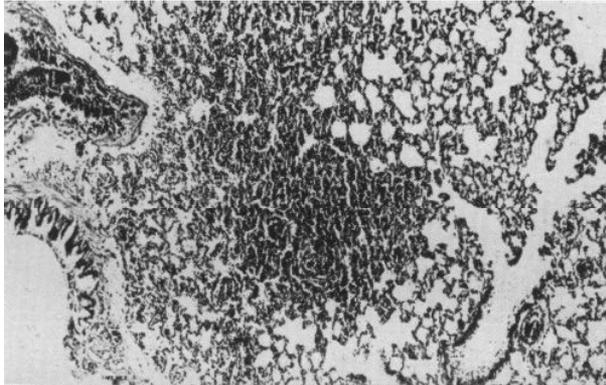


Fig. 45.-Corte del pulmón mostrando un foco de hemorragia reciente que inunda los alvéolos. Obsérvese su localización peribronquial. Coloración de hematoxilina y eosina (80x).

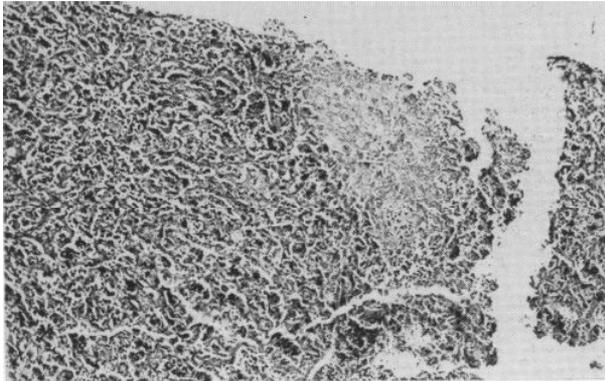
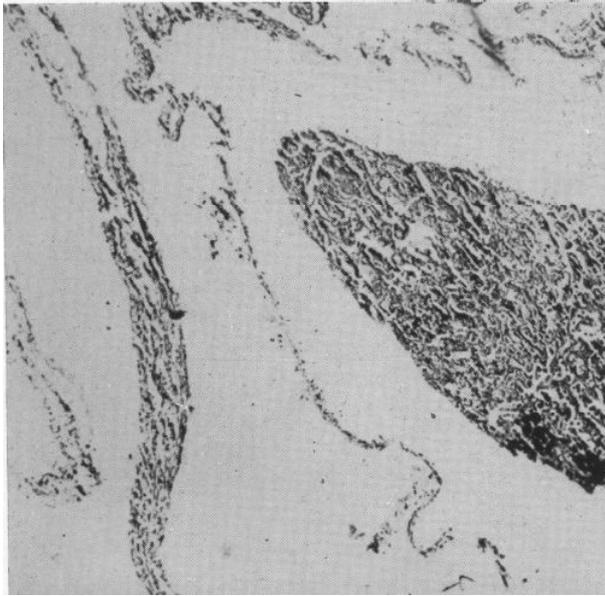


Fig. 46 y 47.-Pequeños focos de necrosis hepática subcapsular, bien delimitados, sin reacción inflamatoria periférica. No se observan signos de reabsorción. Coloración de hematoxilina y eosina (80x).

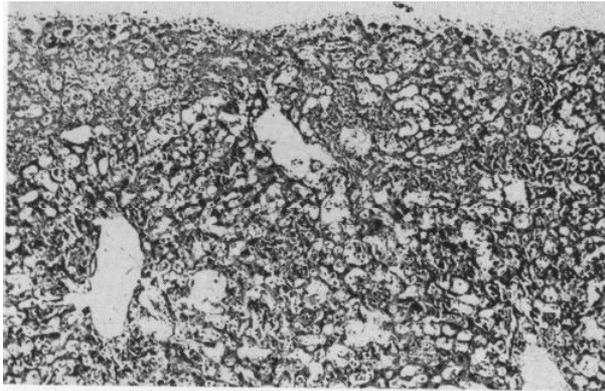


Fig. 48.-Extenso foco de necrosis hepática subcapsular, muy bien delimitado del parénquima vecino. Coloración de hematoxilina y eosina (80x).

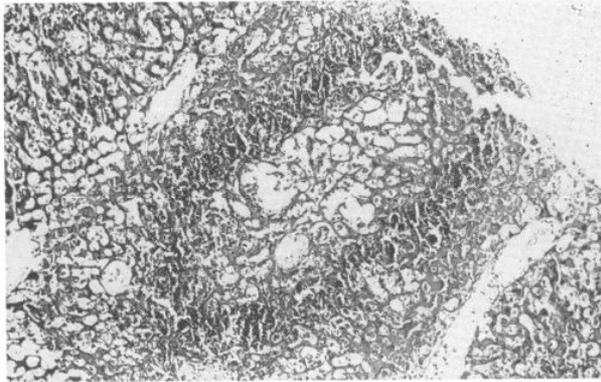
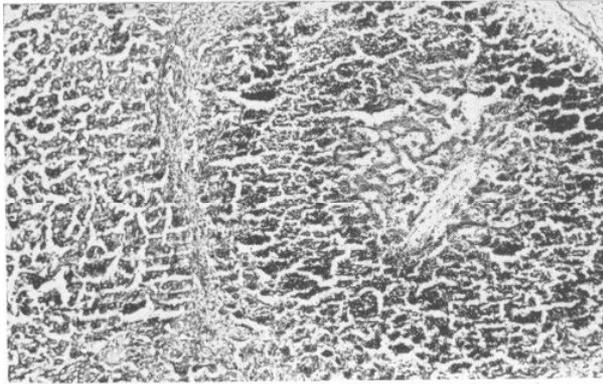


Fig. 49 y 50.-Extensos focos de necrosis hepática subcapsular en estado avanzado. Nótese el halo periférico constituido por detritus celulares y leucocitos. Compárense los campos microscópicos y en el inferior véase en la parte central el comienzo de la reabsorción tisular con espacios vacíos. Coloración de hematoxilina y eosina (80x).

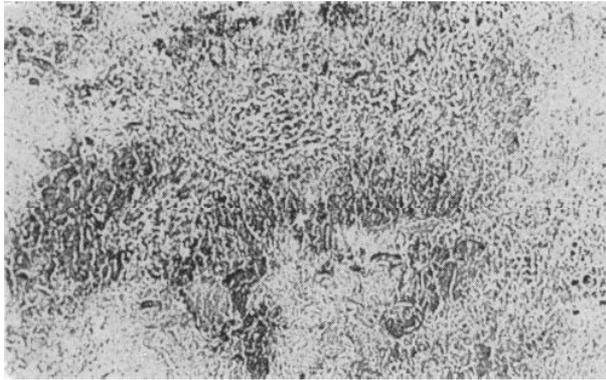


Fig. 51.-Desorganización total de la arquitectura del bazo, con desaparición de folículos. Extensas áreas de necrosis. Coloración de hematoxilina y eosina (80x).

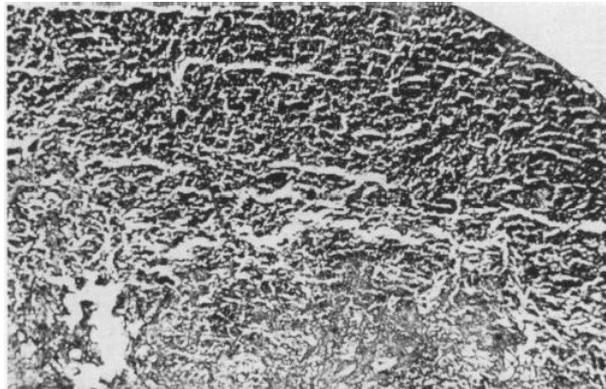


Fig. 52. Area de necrosis focal esplénica. Coloración de hematoxilina y eosina (80x).

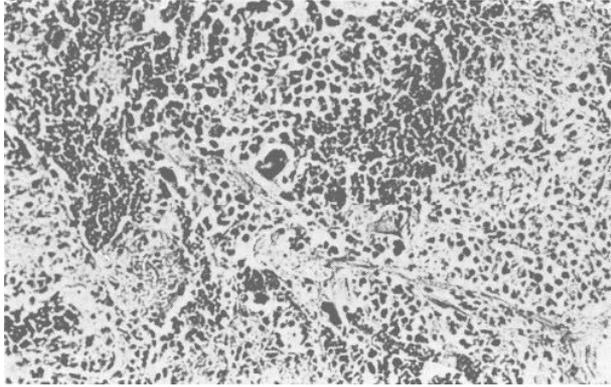


Fig. 53. Se observa la presencia de células gigantes multinucleadas en el borde de un foco de necrosis esplénica. Coloración de hernatoxilina y eosina (200x).

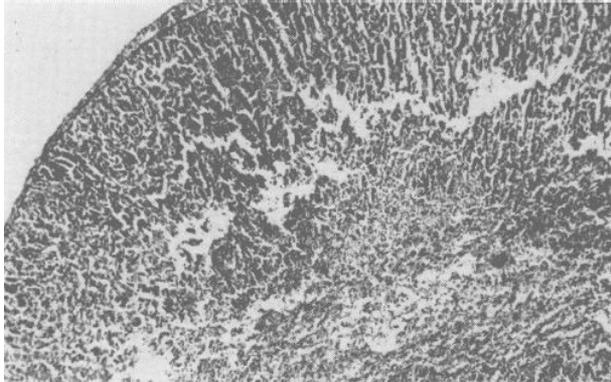


Fig. 54.- Congestión sinusoidal marcada de la suprarenal. Coloración de hematoxilina y eosina (80x).

VII. EXPERIMENTO II:

AISLAMIENTO DEL PRINCIPIO ACTIVO

Las semillas de *Lecythis ollaria* fueron extraídas de su pericarpio leñoso y luego de la cáscara pardusca que las recubre, trituradas y en seguida se hizo la extracción en benceno durante dos días. El precipitado se centrifuga y es secado en la estufa hasta eliminar el benceno. El sobrenadante contiene los lípidos y es la fracción N° 1. El precipitado se trató con un volumen tres veces mayor de alcohol etílico. El sobrenadante alcohólico es la fracción N° 2. El precipitado fue tratado dos veces con doble volumen de agua destilada, a una temperatura de 4°C. El sobrenadante acuoso es la fracción N°, 3. El precipitado fue tratado con una solución de cloruro de sodio al 10%, dos veces a 4°C. El sobrenadante es la fracción N° 4. El precipitado es la fracción N° 5.

Disponiendo de un excelente bioensayo, como es el efecto citotóxico en cultivo de tejidos, pudimos determinar que el principio activo estaba contenido únicamente en las fracciones acuosa y salina (fracciones 3 y 4). Era por lo tanto soluble en agua e insoluble en etanol y otros solventes orgánicos. Se estableció igualmente que era dializable (y por lo tanto de bajo peso molecular), que era termoestable, y que era absorbido en Dowex 50 (forma H+) de una solución de pH neutro, y eluido con concentraciones en aumento de solución de cloruro potásico. Así se obtuvo el material cristalino en forma pura.

VIII. EXPERIMENTO III:

ESTRUCTURA QUIMICA DEL FACTOR

FARMACOLOGICAMENTE ACTIVO

Con la colaboración de los Dres. Peter B. Russell, N. H. Grant, y H. E. Alburn y los señores D. E. Clark y J. A. Miller se ha podido determinar la estructura química del principio activo de las semillas de *Lecythis ollaria*.

PARTE EXPERIMENTAL

Cromatografía de papel

Los extractos acuosos crudos mostraron la presencia de varias manchas positivas a la ninhidrina, una intensa, tres moderadas y, al menos, tres muy débiles. El componente más importante fue bien diferenciado de los aminoácidos más comunes y de la mimosina en los sistemas de Cromatografía de papel corrientes. Desde que este componente poseía propiedades de intercambio iónico similares a aquellas halladas en los experimentos preliminares de aislamiento, basados en la citotoxicidad en cultivo de tejidos, las etapas subsiguientes de purificación fueron guiadas por la Cromatografía de papel.

Purificación

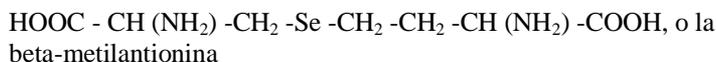
Las nueces extraídas de su pericarpio leñoso (2,6 Kg.) se trituraron en un mezclador Waring. Las sustancias sólidas fueron extraídas primero durante una hora con 5 l. de benceno a la temperatura ambiente y luego con 3 l. de etanol a 6 grados. El residuo se extrajo luego con 6 l. de agua a 8 grados por hora y media. El filtrado se concentró a 400 ml. y dializó contra 18 l. de agua destilada fría. El dializado se concentró hasta 1,1 l., se ajustó su pH hasta 11 con hidróxido de sodio y se centrifugó. La solución sobrenadante se pasó a través de una columna de Dowex 1- x 10 (C1-) de 40 x 1,8 cm. El compuesto activo adsorbido fue luego levigado con buffer de 1 M piridina-ácido acético, pH 6,7, y las fracciones con el contenido más alto en aminoácidos, tal como se determina con la prueba de la ninhidrina, se reunieron. Las fracciones unidas se concentraron 10 veces y luego se refrigeraron, resultando en la acumulación de 250 mg. de cristales en forma de agujas. La adición gradual de etanol en frío dio 650 mg. adicionales de cristales, estructural y cromatográficamente idénticos a los cristales originales.

Identificación

Las propiedades cromatográficas en varios papeles y sistemas de intercambio iónico, y la cristalinidad, sugerían un alto grado de pureza del producto. Los análisis infrarrojos indicaban fuertemente un aminoácido, y no presentaban grupos hidroxilo, amida o fenilo, mientras que el espectro ultravioleta presentaba solamente absorción al final. El espectro de resonancia magnética nuclear en D₂O sugería un compuesto asimétrico sin grupos metilo. Los análisis iniciales para C, H, N y S dejaban bastante peso por contar, y las propiedades farmacológicas y el olor producido por la digestión del compuesto sugería que podía estar presente selenio. Los ensayos cualitativos presentaron un alto contenido en selenio, que, junto con otras propiedades observadas, sugería que este era uno de los análogos del selenio de los aminoácidos naturales azufrados, previamente observados en pastos y leguminosas que crecen en terrenos seleníferos. La cromatografía de papel, el análisis elemental, y varias pruebas de color, fácilmente eliminaron los análogos de selenio de numerosos compuestos -S-S-, -S-CH₂-S- y -S-R-, conduciendo a la posibilidad de un compuesto bis con un solo átomo de selenio como por ejemplo un éter de selenio



El compuesto fue entonces sometido a la hidrogenólisis por níquel de Raney, usando el procedimiento de Mozingo y col. 48 para remover el selenio. Los productos fueron cromatografiados, usando los procedimientos en tres papeles descritos arriba, y los únicos componentes hallados fueron la alanina y el ácido alfa-amino butírico. Estos resultados indicaron que el compuesto era el análogo selenífero de la cistationina



El espectro infrarrojo del compuesto aislado era prácticamente idéntico con el espectro publicado para la cistationina y la información sobre resonancia magnética nuclear eliminada la beta-metilantionina. A tra-

vés del trabajo anterior había algún azufre presente, presumiblemente debido a la cristalización de la cistationina con el análogo de selenio, como ha sido observado por Horn y Jones ³². La recristalización subsiguiente, sin embargo, produjo un producto esencialmente libre de azufre con los siguientes análisis elementales

Calculado para $C_7H_{14}N_2O_4Se$: C, 31, 3 ; H, 5, 2 ; N, 10, 4 ; Se, 4.

Se encontró : C, 31, 3 ; H, 5, 2 ; N, 10, 0 ; Se, 29, 2.

La rotación óptica fue de + 36,5" (1 % en 1 N HCl).

La incubación con la oxidasa d-aminoácido y la cromatografía subsiguiente no presentaban pérdida del material con el cual se comenzó, y así los compuestos serían L-2-amino-4- (L-2-amino-2-carboxietil) selenil ácido butírico o cistaselenonina (seleno-cistationina).

Discusión

La principal fuente previamente descrita del análogo selenífero de la cistationina, es una planta sin relación con la que describimos, denominada *Astragalus pectinatus* ("loco weed") de la parte occidental de los Estados Unidos de América, de la cual, este aminoácido fue obtenido por Horn y Jones ³². Las semillas secas, sin grasa, de *Lecythis ollaria* se encontró que tenían 1,82 por ciento en total de selenio, en comparación con 0,36 por ciento que se encuentra en las semillas de *Astragalus pectinatus*. La cantidad de selenio obtenido en forma cristalina, tal como se describe en la parte experimental del trabajo, representa solamente el 3,3 por ciento del total del selenio presente. Sin embargo, la cocrystalización del compuesto con cistationina y la gran dificultad de separarlo de otros aminoácidos con selenio de sus análogos azufrados, aun mediante cromatografía y electroforesis, hace posible que se requiera considerable esfuerzo para desarrollar métodos para obtener más alta productividad de los derivados puros de selenio.

IX. EXPERIMENTO IV*

EFECTO CITOTOXICO IN VITRO**

El informe de que la ingestión de semillas de *Lecythis ollaria* ("Coco de Mono") causaba una extensa caída del pelo, sugirió la posibilidad de que esta planta contuviera un agente citotóxico. Se procedió a realizar la extracción de las nueces con benceno (para remover los lípidos); y luego con alcohol; agua; y, finalmente, solución salina isotónica.

Estos extractos se probaron en relación con su capacidad para inhibir in vitro el crecimiento de los fibroblastos del ratón (células "L" de Earle).

El sistema de ensayos usado, consta de fibroblastos de ratón creciendo in vitro, y ha sido empleado previamente muchas veces en estudios del efecto de las drogas en células de mamíferos. Esta línea celular fue originalmente obtenida por Earle y sus colaboradores en 1945, de células normales de un ratón C_3H . Es bien sabido que las células usadas hoy

* En colaboración con el Profesor L. Aronow.

** Ver la Segunda Parte del trabajo donde se trata esta materia más extensamente.

en día descienden de una sola célula. El procedimiento de esta prueba consiste en preparar una suspensión estéril de células en un frasco de medio de cultivo (el medio en uso, es el que ideó Eagle), agitando la suspensión con un agitador magnético, y dispensando cantidades iguales de la suspensión en frascos de farmacia ordinarios de caras planas. Las botellas se acuestan, bien tapadas, en la incubadora a 37°C. Las células se adhieren al piso del frasco y comienzan a crecer. Al siguiente día (día 1), se determina el número de células en un grupo de 3 frascos (cada frasco se cuenta individualmente), y las muestras que se van a determinar se añaden a otros grupos de 3 frascos cada una. Después de 5 ó 6 días de crecimiento en la incubadora, se termina el experimento y se cuenta el número de células en cada frasco. Se incluyen siempre los grupos de control, y a estos grupos se les asigna un valor del 100% ; el porcentaje de crecimiento de los grupos de prueba puede ser calculado entonces. Los grupos de control habrán crecido 20 veces en el período de 5 días de cultivo. Así, si tenemos en el "día 1" un conteo de 1×10^5 células en un frasco de farmacia de 6 onzas, con 15 ml. de medio de cultivo, en el día 5 habrá 2×10^6 células en cada botella de los grupos de control.

El número de células en cada frasco se determina con gran precisión y rapidez mediante el uso de un contador de células electrónicas, el "Contador Coulter". Este aparato fue originalmente fabricado para contar glóbulos sanguíneos, pero sirve igualmente para contar estas células. El instrumento está compuesto de dos electrodos, separados uno de otro por un orificio de 100 micras de diámetro. Hay un manómetro que permite exactamente, el pase de 0,5 ml. de suspensión de células, a través del orificio. Cada vez que pasa una célula a través del orificio, hay un cambio de la resistencia eléctrica entre los electrodos, y esto puede ser registrado como una unidad en un instrumento electrónico similar a los contadores usados en el trabajo de investigación radiactiva (detector).

En la práctica, el frasco que se va a contar se saca de la incubadora y se extrae el medio de cultivo agotado. Se añaden exactamente 10 ml. de solución salina isotónica, y se despegan las células del fondo del frasco raspándolas con una espátula especial de goma. La suspensión celular se cuenta entonces de manera automática, y el procedimiento completo toma solamente uno o dos minutos.

Utilizando este procedimiento, hemos encontrado que el extracto acuoso de las semillas de "Coco de Mono" posee un marcado efecto citotóxico. Utilizando la inhibición del crecimiento del cultivo de tejidos como bioensayo, estuvimos en capacidad de determinar que el material activo era un compuesto soluble en agua, dializable, y termoestable. No es soluble en etanol u otros solventes orgánicos. El material activo podía ser adsorbido en una columna de intercambio iónico de Dowex-50 (forma H+) de una solución a pH neutro, y eluida con concentraciones en aumento de solución de cloruro de potasio. De esta manera, un material parcialmente puro y cristalino fue preparado y denominado "venecina". Estudios preliminares indican que esta sustancia es idéntica a una muestra de selenocistationina obtenida de estas nueces por los químicos de los laboratorios Wyeth en los Estados Unidos de América.

El efecto citotóxico de ambos, tanto la venecina, como la selenocistationina, puede ser revertido por el aminoácido l-cistina. Morfológicamente, el daño celular causado por el extracto de coco de mono parece ser inespecífico. No produce "células gigantes" como sucede con la mos-

taza nitrogenada, ni tampoco bloquea la división celular en la metafase como lo hace la colchicina. Las células tratadas presentan una disminución de la división celular y extensa vacuolización 2 ó 3 días después de añadir la droga, y no hay lisis celular extensa hasta el cuarto día.

X. TOXICOLOGIA DEL SELENIO Y SUS COMPUESTOS

La literatura científica sobre la toxicidad del selenio y sus compuestos es muy extensa, y, afortunadamente contamos con tres excelentes revisiones de Painter en 1941 ⁵², de Moxon y Rhian en 1943 ⁴⁷ y de Cerwenka y Cooper en 1961 ¹⁴ conteniendo 186, 195 y 67 referencias respectivamente.

En un trabajo de la índole del presente sólo podemos mencionar algunos hechos relevantes y pertinentes al problema que abordamos, tomando la mayor parte de la información de estos tres trabajos de revisión.

El elemento selenio fue descubierto por Berzelius y Gahn en 1817, examinando el sedimento de una planta de ácido sulfúrico en Gripsholm, Suecia. La producción de selenio nunca ha sido muy grande, a pesar de que tiene aplicaciones importantes en las industrias química, eléctrica, cerámica y metalúrgica. La producción mundial en tiempo de paz, se estima en 1.000.000 de libras, la mayor parte de lo cual se obtiene como subproductos en las refinerías de cobre.

El interés más grande en el selenio surgió con el descubrimiento de sus efectos tóxicos en el organismo animal. Aún cuando Japha (citado por Moxon y Rhian) había probado en 1842 que el selenio tenía propiedades tóxicas definidas, no se le había asociado a una enfermedad del ganado, conocida con el nombre de "enfermedad alcalina", hasta el año 1931. Posiblemente el primer trabajo de envenenamiento del ganado por selenio ("enfermedad alcalina") lo constituye el informe escrito en 1865 por un cirujano del ejército norteamericano, llamado Madison, asignado en Fort Randall, en el territorio de Nebraska. El Dr. Madison describió una enfermedad fatal en los caballos que pastaban en ciertas zonas en la vecindad del fuerte. Los caballos sufrían pérdida de los pelos largos de la cola y de la crin, y los cascos se hacían dolorosos en tal forma que les impedía moverse en busca de alimentos. Cuando la zona fue poblada por colonizadores, encontraron las mismas dificultades observadas por Madison y la llamaron "enfermedad alcalina", asociándola al alto contenido salino del agua.

Franke encontró que los cereales de esa zona eran tóxicos a los animales de laboratorio y ello condujo al descubrimiento de selenio en el trigo tóxico que crece en terrenos seleníferos, hecho por Robinson en 1933.

Las tierras derivadas de ciertas formaciones geológicas que contienen selenio, lo hacen disponible a las plantas que lo absorben hasta el punto de volverlas tóxicas cuando son consumidas por los animales. Esta vegetación tóxica causa considerables pérdidas en el ganado, y constituye directa o indirectamente, un riesgo desde el punto de vista de la salud pública.

El selenio puede ser absorbido por las plantas y esto ha sido demostrado por Cameron en 1880 y por Knop en 1885. Beath y col. informaron en 1934 que ciertas plantas podían ser usadas como "indicadoras" para demostrar tierras y formaciones geológicas ricas en selenio. Todas estas

plantas "indicadoras", están clasificadas en los géneros: Stanleya, Obnopsis, Xyloriza y Astragalus (algunas especies). Las observaciones de Field sugieren que el selenio es esencial para el crecimiento de estas plantas "indicadoras", y Trelease y Trelease han informado que el selenio es un estimulante, si es que no es esencial, para las plantas "indicadoras".

También hay que mencionar aquí el uso del selenio como insecticida en algunas plantas, especialmente en frutos cítricos, disolviendo selenio en una solución de sulfuro de amonio y potasio, práctica que debe ser condenada por el peligro inherente que conlleva y porque es inefectivo contra algunos insectos.

El envenenamiento del ganado con selenio produce dos grandes cuadros patológicos, el tipo crónico y el agudo o subagudo. El tipo crónico es la llamada "enfermedad alcalina", predominante en Dakota del Sur, en Estados Unidos de América; el tipo agudo se ha denominado "ceguera tambaleante" ("blind staggers") y es común en el estado de Wyoming de ese mismo país, donde abundan plantas "indicadoras". El término "ceguera tambaleante" no es el más apropiado pues los animales puede que no se vuelvan ciegos y no tambalean en todos los casos, pero pone en evidencia dos de los síntomas principales de la intoxicación aguda por el selenio, que terminan paralizados, muriendo en insuficiencia respiratoria.

Como resultado de la transmisión transplacentaria de selenio, los animales recién nacidos pueden presentar alteraciones características de los cascos.

Además del ganado vacuno y caballar, se ha descrito la sintomatología típica de intoxicación por selenio, en puercos, pollos, y en animales de laboratorio. Hay considerable desacuerdo en relación con la dosis letal mínima de selenio para varios animales. Franke y Moxon han determinado la toxicidad de las sales de sodio del arsénico, selenio, telurio, y vanadio, administrados por inyecciones intraperitoneales, encontrando que la toxicidad relativa disminuye en la dirección siguiente: telurito, selenito, vanadato, arsenito, selenato, arsenato y telurato. Anderson y Moxon resumen sus hallazgos en la sangre de perros en la intoxicación aguda por el selenio, de la siguiente manera : 1) aumento marcado de la hemoglobina; 2) disminución del fósforo inorgánico, del nitrógeno no-proteico, del calcio, del ácido ascórbico y de la glucosa; 3) hay además reducción del glutatión.

Después de la administración oral de selenio para producir envenenamiento crónico, todos los tejidos del cuerpo contienen alguna cantidad de selenio.

Se ha establecido que la adición de metionina a la dieta deficiente en este aminoácido tiene una influencia beneficiosa en la intoxicación por selenio (Schultz y Lewis).

Se sabe desde hace muchos años que el selenio tiene un efecto directo en ciertos organismos unicelulares y sistemas enzimáticos, y Chabrie encontró en 1888 que el selenito de sodio inhibía la fermentación alcohólica. Wright en 1938 concluyó que el selenio es un inhibidor general de las hidrogenasas.

Los trabajos de Franke y de Franke y Painter demostraron en forma definitiva que el selenio en los cereales tóxicos estaba asociado a las proteínas de esos granos. Estos estudios indicaban que el selenio es parte

integral de la molécula proteínica y consecuentemente ha habido muchas especulaciones acerca de la posibilidad de que el selenio reemplace al azufre en los aminoácidos cistina y metionina. La toxicidad del análogo selenífero de la cistina es comparable a la toxicidad del selenio en granos seleníferos y al selenito de sodio, mientras que la toxicidad del selenio en todos los compuestos orgánicos de selenio investigados ha sido considerablemente menor. Estas experiencias le dan validez a la hipótesis de que el selenio existe en los granos como el análogo selenífero de un aminoácido azufrado.

La intoxicación por selenio en el hombre representa un peligro industrial aunque es relativamente rara. Los compuestos de selenio son absorbidos a través de los pulmones y de la piel, en forma de humo o polvo. Los síntomas de la intoxicación crónica por selenio, son palidez marcada, nerviosismo, saburra lingual, depresión, postración, dermatitis ocasional, trastornos gastrointestinales y olor alíaceo del aliento y del sudor ^{14 78}.

El órgano más afectado por el selenio en los animales es el hígado. Este órgano sufre una degeneración grasa que es reversible si la duración de la exposición al selenio no es demasiado prolongada. Si la exposición persiste sobreviene la cirrosis hepática. El bazo aumenta de tamaño, y el estómago y el intestino presentan hemorragias. En el riñón hay usualmente sólo moderada degeneración tubular. El alza inicial de la hemoglobina es seguida por anemia.

La detoxificación del selenio en el organismo animal se realiza mediante la reducción de los compuestos de selenio a selenio elemental, que es aparentemente inocuo. En materia de tratamiento se ha encontrado que la caseína es la proteína con propiedades protectoras más efectivas, y aunque aparentemente extraño, también se ha comprobado que el arsénico tiene una acción contraria a los efectos tóxicos del selenio.

Finalmente, es especialmente importante señalar aquí, que recientes estudios han indicado que el selenio -aunque parezca paradójico- tiene un importante papel en la nutrición animal y puede ser de especial significación en el tratamiento de varias enfermedades carenciales ^{62, 10, 38}. Estos estudios indican que trazas de este elemento pueden ser un factor esencial para la respiración tisular, como componente de un sistema de transferencia electrónica de las células. En el estudio de Schwarz y col. ⁶² acerca de la identidad del "factor 3", una sustancia en la dieta que protege contra la necrosis hepática, producida en la rata por la alimentación con una dieta baja en cistina y en vitamina E, resultó esta observación de gran importancia. El "factor 3" es un compuesto orgánico que contiene selenio. Se ha sugerido que el selenio es un componente de una enzima esencial para la reacción de oxidación-reducción con la cisteína, y que la vitamina E también actúa como un antioxidante.

XI. COMENTARIOS

Durante muchos años ha constituido un enigma la explicación científica del efecto depilatorio de la ingestión de semilla de "coco de mono". Por una feliz coincidencia de factores favorables, hemos podido, con la cooperación de diversos grupos de investigadores e instituciones, poder llegar a dilucidar el problema.

La *Lecythis ollaria* es pues una de esas plantas "acumuladoras" de selenio, capaces de sintetizar un aminoácido conteniendo selenio, la selenocistationina, análogo selenífero de la cistationina.

Este aminoácido, la cistationina, interviene activamente en la cadena de reacciones que toman lugar en el proceso normal de la queratinización⁶⁰. Como ya se ha mencionado cuando se habló de la queratinización, la metionina puede reemplazar a la cistina tanto en el crecimiento en general, como, específicamente, en el crecimiento del pelo. Probablemente, la incorporación de selenocistationina en lugar de cistationina, explica las alteraciones del proceso de queratinización normal. En la figura 55 puede apreciarse claramente la conversión de metionina en 1-cisteína, y el sitio preciso en que el átomo de selenio reemplaza al de azufre.

Ahora bien, el papel mismo del selenio en el organismo, está en una etapa de incorporación continua de nuevos conocimientos. En este mismo año de 1964, Shrift - ha presentado evidencia convincente de que existe un ciclo del selenio en la naturaleza, similar a los del carbono, nitrógeno y azufre. Dentro del ciclo existen organismos que reducen las formas más oxidadas del elemento, y otros organismos que completan el ciclo oxidando el elemento reducido a su estado inicial (Figura 56). Se ha demostrado que hay bacterias, hongos e incluso plantas más evolucionadas, en especial especies de *Astragalus*, que metabolizan el selenato o selenito, la forma más oxidada de selenio, hasta el nivel de selenuro. La síntesis biológica de varios seleno-aminoácidos (por ejemplo la selenocistationina) y del seleno-éter, dimetilselenuro, constituyen evidencia de por lo menos la primera mitad de dicho ciclo. La evidencia para el resto del ciclo es fragmentaria. La transformación biológica de selenio de valencia -2 a valencia cero, no ha sido descrita en la literatura, pero existen indicaciones de que algunos microorganismos son capaces de oxidar selenio de valencia cero a selenio de valencia +6.

Las plantas "acumuladoras" de selenio, casi siempre asociadas con tierras semi-áridas, seleníferas, biosintetizan compuestos orgánicos de selenio, como la Selenocisteína y la selenocistationina y liberan estos compuestos en la tierra cuando se descomponen. Si no existiera alguna manera de oxidar estos compuestos, se esperaría un aumento gradual del selenio orgánico, particularmente en esas regiones secas, pero sorprendentemente, el selenio de esas zonas es primariamente inorgánico. La ausencia de selenio orgánico en el suelo ha sido atribuida a causas diversas, entre ellas, a la absorción por las plantas, a la dispersión y a la conversión en compuestos inorgánicos. De esta tres posibilidades sólo la primera ha sido satisfactoriamente comprobada. El selenio en forma de compuestos orgánicos, soluble en agua, derivado de las especies "acumuladoras", es rápidamente tomado por muchas plantas. Otra posibilidad digna de tomarse en consideración -aunque todavía no se ha demostrado- es la de la oxidación del selenio orgánico por microorganismos.

Existe una evidencia creciente de que el selenio constituye uno de los elementos esenciales para la vida, lo que también apoya la hipótesis en favor de la existencia de un ciclo para este elemento. Es concebible que dicho ciclo exista tanto en regiones con alta concentración de selenio en el suelo, como en áreas donde la concentración es baja.

También se puede asentar que el selenio es más fundamental al metabolismo celular de lo que se pensó hasta fecha reciente.

Durante años se ha sabido que el selenio se encuentra en cantidades significantes en la tierra y vegetación en ciertas partes del oeste de los Estados Unidos de América, y que los animales que pastan en estas regiones desarrollan la forma aguda y crónica de la intoxicación por el selenio, denominadas "ceguera tambaleante" y "enfermedad alcalina" respectivamente.

También sabemos que la principal fuente del análogo selenífero de la cistationina, previamente descrita en la literatura, es una planta denominada *Astragalus pectinatus* ("loco weed"), común en el oeste de los Estados Unidos, sin ninguna relación con el género *Lecythis*.

Las semillas secas y desgrasadas de *Lecythis ollaria* contienen 1,82 por ciento de selenio, en comparación con 0,36 por ciento en las semillas de *Astragalus pectinatus*, o sea, aproximadamente, que está 5 veces más concentrado en el "coco de mono".

Recientemente, Gerritsen y Waisman 24, han podido demostrar que la cistationina estaba ausente en el cerebro de un paciente con homocistinuria. La homocistinuria es una anomalía congénita del metabolismo de los aminoácidos azufrados, caracterizada clínicamente por retardo mental, cristalinos subluados, cabello fino y ralo y convulsiones, y ha sido descrita recientemente en Inglaterra y en los Estados Unidos de Norteamérica. Este síndrome se cree debido a un defecto enzimático, específicamente, a la deficiencia o ausencia de la enzima denominada sintetasa de la cistationina, que cataliza la formación de cistationina, a partir de la homocisteína y de la serina, en la cadena metabólica que forma cisteína a partir de la metionina (véase figura 55). El hallazgo de los autores da apoyo a la teoría de que el defecto enzimático en la homocistinuria consiste en una deficiencia de la sintetasa de la cistationina. En relación con nuestro trabajo, demuestra que un síndrome, una de cuyas características es el cabello ralo y fino, se debe a una alteración a nivel del metabolismo de los aminoácidos azufrados, precisamente por la incapacidad de formar cistationina, que como hemos podido establecer es el aminoácido que resulta alterado por la incorporación de selenio (Figura 55), de modo que este aporte da renovada importancia a la cistationina y a los trastornos que puede provocar su ausencia o modificación.

Aunque desde el informe de Madison en 1856 se sabe que la "enfermedad alcalina" tenía entre otros síntomas, caída del pelo de la cola y de la crin, y alteraciones de los cascos, en los caballos de Fort Randall, Nebraska, y más tarde pudo comprobarse la "acumulación" de selenio en las plantas ingeridas por los animales y atribuirse la enfermedad a una intoxicación crónica por el selenio; no hay informes en la literatura médica mundial de caída del pelo en seres humanos atribuida a la intoxicación aguda o crónica por el selenio, con la excepción de los hallazgos contradictorios que resumimos a continuación, en relación con el uso de

champú de sulfuro de selenio en el tratamiento de la dermatitis seborreica.

Aunque el disulfuro de selenio en forma de champú (Selsun) ha sido ampliamente usado en el curso de más de una década, solamente encontramos escasa información en la literatura médica sobre caída del cabello asociada a su uso. El primer informe es el de Grover ", quien citó 6 casos de mujeres con abundante caída del cabello, quienes habían venido usando el champú de sulfuro de selenio en forma continua por lapsos variables de semanas a años, y tan pronto se omitió, se observó que la caída del pelo cesaba al cabo de 1-2 semanas. El autor estableció una analogía con los conocidos efectos tóxicos del selenio en el ganado.

Skog ⁶⁶ investigó la influencia del disulfuro de selenio en el volumen de glándulas sebáceas de los cobayos, observando que tanto el champú de sulfuro de selenio (Selsun) como el vehículo detergente por sí mismo, eran capaces de determinar un considerable aumento en el volumen de las glándulas sebáceas, pero que el efecto del champú conteniendo selenio era más pronunciado; también encontró un efecto acantogénico en ambas preparaciones, que determina una proliferación de las capas de células de la epidermis.

Archer y Luell ³ han hecho un estudio sobre el efecto de la suspensión de disulfuro de selenio en las raíces pilosas. En el experimento inicial usaron una preparación comercial que contiene 2,5% de disulfuro de selenio en suspensión, aplicada por 9 horas a una zona limitada del cuero cabelludo, y luego en forma periódica se estudiaron las raíces de los cabellos de esa zona y otra área testigo, de acuerdo con la técnica de Van Scott y col. ^{72 73}. Antes de la aplicación cerca del 10% de las raíces pilosas eran "displásicas", y este porcentaje se mantuvo por los siguientes 25 días en el área de control, en cambio en el área tratada entre el 5° y 10° días, más del 40% de las raíces presentaba modificaciones "displásicas", análogas a aquellas producidas por los rayos X y por ciertos agentes quimioterapéuticos del cáncer. Al cabo de 25 días el porcentaje de pelos afectados había regresado al nivel previo al tratamiento. En un segundo experimento, sometieron a 4 sujetos adultos a tratamiento con champú de disulfuro de selenio, de acuerdo con las indicaciones del fabricante, encontrando también marcado aumento de pelos "displásicos".

Estas alteraciones encontradas en las raíces pilosas después de la aplicación de disulfuro de selenio pueden representar un efecto tóxico del ión selenio en las papilas de las raíces pilosas, tal como fue sugerido por Sidi y Bourgeois-Spinasse " quienes notaron que las preparaciones de sulfuro de selenio tenían un efecto perjudicial en muchos casos de alopecia y pitiriasis.

Dos años más tarde, Maguire y Kligman ⁴¹ repiten exactamente la misma técnica de Archer y Luell, y otras adicionales, y concluyen, que aun después de una exposición prolongada, no pudieron demostrar efecto tóxico alguno en los pelos. Señalaron que la intoxicación del ganado por aumento de selenio en el pasto era bien conocida a los veterinarios, y el hallazgo de alopecia es a menudo parte importante de este síndrome, pero que en humanos aun cuando se ha informado de casos raros de intoxicación por selenio siguiendo a la aplicación de sustancias que lo contienen, en una piel con dermatitis, no se ha descrito la alopecia como parte del síndrome clínico.

En el trabajo de Cerwenka y Cooper ¹⁴ donde se revisa en forma cuidadosa la literatura científica mundial en relación a la toxicología del selenio y sus compuestos, se concluye que tienen una toxicidad en humanos que varía ampliamente de una sustancia a otra, y que aunque la toxicidad del selenio en su forma elemental es bastante limitada, los polvos y humos de selenio inhalados provocan irritación del tracto respiratorio. Si este tipo de exposición es frecuente, puede producir neumonitis severa e irritación pulmonar. El anhídrido de selenio causa dermatitis y quemaduras cuando entra en contacto con la piel. El selenuro de hidrógeno es una sustancia muy tóxica que ocasiona irritación severa de los órganos respiratorios. El oxiclورو de selenio es un activo vesicante, capaz de ocasionar quemaduras severas que cicatrizan muy lentamente. Y, por último, se refiere a la toxicidad de los compuestos orgánicos del selenio. De esta revisión completa de la literatura, hasta el año de 1963, podemos inferir que el selenio y sus compuestos no tienen una acción per se de inhibición de la queratinización, y que ello sólo sucede cuando forma parte del aminoácido selenocistationina, que reemplazando a su análogo azufrado, la cistationina, en la cadena metabólica de conversión de la metionina en cisteína (Figura 55), evidentemente altera de manera consistente la formación de queratina. Aparentemente sólo ciertas plantas, y entre ellas en forma destacada, la *Leeythis ollaria*, son capaces de sintetizar este aminoácido selenífero análogo de la cistationina. Por otra parte, el renovado interés en la cistationina, como se pone en evidencia por el trabajo de Gerritsen y Waisman ²⁷, estableciendo que la homocistinuria, síndrome en el cual se observa entre otros síntomas, pelo ralo y fino, y que es debido a la falta de cistationina, demuestra una vez más el papel importantísimo de este aminoácido en la síntesis de la queratina.

Entre otros comentarios, es oportuno mencionar aquí, que otras sustancias de origen vegetal pueden producir caída del pelo, de modo parecido clínicamente, al que hemos descrito en nuestras observaciones. Se sabe por ejemplo, que las semillas de una acacia, la *Leucaena glauca*, que contiene un aminoácido sustituido, la mimosina o leucenol (Figura 57), producen caída del pelo reversible en humanos y animales que la ingieren.. Crouse, Maxwell y Blank ¹⁷ han podido demostrar experimentalmente la inhibición del crecimiento del pelo en animales de laboratorio mediante la administración de mimosina. En su trabajo, estos autores, inhibieron el crecimiento piloso y produjeron pérdida o caída del pelo en ratones sometidos a la ingestión oral de semillas trituradas de *Leucaena glauca* y de mimosina purificada. Estas sustancias se mezclaron separadamente con los comprimidos comerciales de alimentos para ratones, observándose la ausencia de repoblación en áreas previamente depiladas en el dorso de los animales, cuando recibían una dieta conteniendo el 10% de las semillas molidas, o el 1% de mimosina purificada; en contraste, con una repoblación normal al cabo de 8-10 días, en aquellos animales alimentados con la mitad de dichas concentraciones. Se ha podido demostrar que la mimosina actúa como un análogo de la tirosina, capaz de inhibir la carboxilasa de la tirosina y de inhibición por competencia con la tirosinasa, y se piensa que la acción tóxica de la mimosina en los pelos anágenos puede ser debida a la inhibición de las enzimas que utilizan la tirosina, o quizá, a la incorporación de la mimosina en proteínas biológicamente vitales, en lugar de la tirosina.

Más recientemente se ha descrito el mismo fenómeno de caída del pelo en ovejas australianas que pastan en praderas en las que crece *Leucaena glauca*.

Cuando iniciamos nuestras investigaciones sobre el "coco de mono" nos enteramos de estos trabajos, y fue motivo de especial interés, poder llegar a demostrar que el principio activo y modo de acción de la *Lecythis ollaria* era diferente de la mimosina contenida en la *Leucaena glauca*, lo que ya ha quedado comprobado de manera satisfactoria.

El efecto citotóxico de la selenocistationina debe ser investigado in vivo, utilizando los tumores malignos experimentales, en animales de laboratorio, técnica altamente especializada que se lleva a cabo rutinariamente en algunos pocos laboratorios, y ciertamente fuera del alcance de nuestras actuales posibilidades.

Por sus propiedades depilatoria y citotóxica, debe estudiarse igualmente el efecto sobre la espermatogénesis, ya que es presumible que interfiera igualmente en la actividad mitótica de este tejido en rápida multiplicación.

En igual forma, es también lógico investigar las propiedades que pueda tener como anti-metabolito, especialmente en el rechazo de heteroinjertos.

Finalmente, es oportuno señalar aquí, que esta sustancia, la selenocistationina, debe ser ensayada en relación con su posible efecto terapéutico en la psoriasis. Esta enfermedad de la piel, como es bien sabido, se caracteriza por una hiperqueratosis por sobreproducción, debida a su vez a un aumento de la actividad metabólica o mitótica de la epidermis. En el curso de los últimos años se ha demostrado en forma definitiva el valor terapéutico de algunos agentes citotóxicos como la Aminopterina y el Methotrexate en el tratamiento de esta afección, aunque su marcada toxicidad y lo pasajero del beneficio limitan sus aplicaciones terapéuticas en la clínica diaria. Todo este razonamiento, induce a pensar que la alteración provocada por la selenocistationina en el proceso normal de la queratinización, puede ser de considerable utilidad terapéutica en el control de la psoriasis. Estudios adicionales de la toxicología de esta sustancia se hacen necesarios antes de emprender un trabajo experimental de farmacología clínica, ya que desafortunadamente es una enfermedad que no tiene similares en otras especies, afectando exclusivamente al hombre.

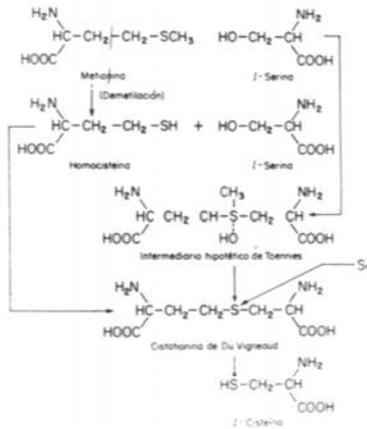
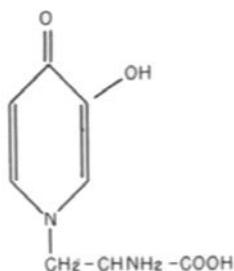


Fig. 55 en el crecimiento en general, y más específicamente, en el crecimiento del pelo. Se observa una cadena de reacciones químicas, que mediante la demetilación de la metionina a homocisteína y la formación de un producto de adición de homocisteína y serina, que es la cistationina, análogo de la cistaselenonina o selenocistationina, fase donde interviene decisivamente este aminoácido alterando el proceso de queratinización normal.



Fig. 56. Ciclo del selenio en la naturaleza.

DIAGRAMA N° 1



Mimosina o Leucenol

β -(N-(3hidroxi-4-piridona)) - α -ácido aminopropiónico

C₂ H₁₀ N₂ O₄ . Peso molecular 198,18

C 48,48% . H 5,09% . N 14,14% . O 32,29%

Fig. 57. Fórmula estructural del aminoácido mimosina o leucenol, presente en las semillas de la *Leucaena glauca*, que también determina caída del pelo en animales y humanos que la ingieren. Nótese las diferencias con la selenocistationina.

XII. CONCLUSIONES

A partir de las semillas de "coco de mono" de un árbol en los llanos del sur del estado Portuguesa donde uno de los pacientes se había intoxicado, perdiendo temporalmente el cabello, fue posible identificar botánicamente la planta como *Lecythis ollaria*^{35 39}

Con semillas de árboles de esta misma zona ha sido posible determinar que el principio activo se encontraba en la fracción acuosa del producto y proceder a realizar trabajos experimentales para determinar su efecto depilatorio en ratones, su toxicología, y su efecto citotóxico en cultivo de tejidos, pudiéndose comprobar su acción alopeciante y su efecto citotóxico marcados.

Se pudo determinar la estructura química del principio activo con la cooperación de un distinguido grupo de bioquímicos norteamericanos, quienes basándose en el trabajo de aislamiento previamente realizado por nosotros, pudieron demostrar que se trataba de la selenocistationina.

Este aminoácido, análogo selenífero de la cistationina, parece reemplazar al aminoácido azufrado (cistationina), factor importante en la cadena metabólica de la queratinización. Es posible que tenga un potencial terapéutico en el control de procesos de intensa actividad metabólica y mitótica.

Es probable que la *Lecythis ollaria*, y tal vez otras especies del mismo género sean plantas "acumuladoras" de selenio, y tal vez este elemento sea indispensable para su propio metabolismo. Es concebible que la concentración de selenocistationina en el fruto de la planta esté en rela-

ción con la disponibilidad de selenio o sus compuestos en el suelo, y esto explicaría la aparente irregularidad en el comportamiento de las semillas de "coco de mono" ingeridas por humanos, que algunas veces producen la típica intoxicación con caída del pelo, y en otras ocasiones no producen ningún efecto clínico demostrable. Un estudio del contenido de selenio en los suelos de los sitios específicos donde se ha observado el fenómeno clínico parece aconsejable y se está llevando a cabo en la actualidad.

Como ha sucedido tantas veces en la historia de la medicina, el conocimiento popular precedió por mucho tiempo a la observación científica, confirmando una vez más que no se puede desdeñar, y mucho menos rechazar, este tipo de informaciones, que sin quedar escritas pasan de generaciones a generaciones entre los habitantes de nuestro llano, señalando la acción depilatoria del "coco de mono", situación que ha sido sabiamente puesta de relieve en el viejo adagio latino *Vox populi, vox Dei...*, que hemos puesto como lema a este trabajo.



Fig. 58.-Distribución geográfica en Venezuela de los casos de caída del pelo ocasionada por la ingestión de semillas de "coco de mono". Todos los casos descritos se han intoxicado en los Llanos venezolanos. De izquierda a derecha: 1 caso en los llanos de Portuguesa (paciente de Kerdel-Vegas), 2 casos en el sur de Guárico en las riberas del Apure (inéditos), 1 caso en los llanos centrales de Guárico (paciente de M. Vegas), y 4 casos en los llanos de Anzoátegui (pacientes de Vélez-Boza).

XIII. RESUMEN

Después de una breve introducción sobre el fenómeno observado en Venezuela, de caída temporal del pelo después de la ingestión de semillas del árbol denominado "coco de mono" (*Lecythis ollaria*), se pasa a describir botánicamente las características de la familia de las lecitidáceas y de la especie concreta responsable del fenómeno.

Se hacen algunas consideraciones en relación con los conocimientos actuales sobre la queratinización de la piel humana, y se mencionan los mecanismos conocidos de inhibición de este importante proceso de la biología cutánea, que permitirá luego comprender el modo de acción del principio activo del "coco de mono".

En seguida se describen las observaciones clínicas previas de los Di-es. M. Vegas, F. Vélez-Boza y F. Kerdel-Vegas y luego las nuevas observaciones clínicas inéditas de caída del pelo después de la ingestión de semillas de "coco de mono".

La parte experimental del trabajo consta de cuatro secciones, referentes a la comprobación de la acción inhibitoria del crecimiento piloso en ratones y al estudio autóptico de los animales sacrificados al concluir el experimento; a los pasos que se dieron para llegar a aislar en forma pura el principio activo ; a la determinación de la estructura química del principio activo, que llegó a demostrarse que era un aminoácido selenífero análogo de la cistationina, denominado, selenocistationina; y a estudiar su actividad citotóxica in vitro en cultivo de tejidos, pudiendo establecer su toxicidad en cultivos de fibroblastos.

Después de hacer breves consideraciones acerca de la toxicología del selenio y sus compuestos se llega a establecer que la selenocistationina, sintetizada por la *Lecythis ollaria* y otras plantas, tiene efectos específicos, diferentes al elemento selenio y sus compuestos inorgánicos.

Se hacen comentarios acerca de las posibilidades del uso terapéutico y experimental de la selenocistationina, como agente capaz de inhibir o alterar el proceso normal de queratinización y por su intensa acción citotóxica. Se sugiere estudiar sus efectos como citotóxico in vivo, y su acción inhibitoria de la queratinización en un proceso caracterizado por hiperactividad metabólica y mitótica de la epidermis como la psoriasis, una vez que los estudios toxicológicos con esta sustancia, así lo permitan.

Finaliza el trabajo, con las conclusiones, resumen, bibliografía y agradecimiento.

SUMMARY (1st part)

In Venezuela the term "coco de mono" ("monkey's coconut") is used to designate plants of the genus *Lecythis* which are characterized by a woody urn -or pot- shaped pericarp covered by an operculum, inside of which the seeds are found.

The family Lecythidaceae is composed of nearly 45 species in tropical South and Central America distributed throughout a vast area running from Brazil to Costa Rica.

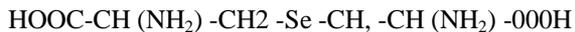
In the flatlands of Venezuela, where this plant is found, there is a popular belief among the natives of the region that the ingestion of the seeds of this tree causes hair loss from the scalp as well as from the body. According to observations already published, all the individuals who have suffered from intoxication and subsequent hair loss were strangers to the zone and at least in two instances the potential victims were warned of the danger that involved the ingestion of these nuts and

the expected consequences in relation to hair loss. Nine cases of intoxication due to the seeds of coco de mono are known, six of them already reported in the medical literature.

In multiple experiments carried out in mice, rats and hamsters "coco de mono" has been administered by mouth at 5 % concentrations and intraperitoneally (aqueous fraction 1:1000 ml. per kg.) in order to study the inhibitory properties of these nuts on hair growth. A rounded zone of 1.5 cm. in diameter on the dorsal region of the animal was depilated with tweezers thus allowing the pilosebaceous follicles to enter the active growth phase (anagen) which determined in the control animals a complete repopulation of the depilated area in a 7 day lapse. During the same period, there was observed a complete inhibition of the hair growth in animals subjected to the action of "coco de mono" administered raw as well as in aqueous fraction or purified saline.

After a prolonged exposure to raw coco de mono or active extracts, a variety of histopathological alterations were found in the sacrificed animals, besides the hair growth inhibition. Among them : atrophy and disappearance of the sebaceous glands, marked atrophy of the epidermis, edema and intraveolar hemorrhage of the lungs, necrotic foci of the liver and spleen and intense sinusoidal congestion of the adrenals.

The active pharmacological factor turned out to be a hydrosoluble substance, thermostable, dializable (and therefore of low molecular weight, adsorbable by certain exchange resins (Dowex 1 and Dowex 50), and finally it was determined that it was the selenium-containing analog of the sulfur amino acid, cystathionine, whose formula is



XV. AGRADECIMIENTO

Nuestro sincero agradecimiento a todas las personas e instituciones que han contribuido en una forma u otra al desarrollo de estas investigaciones. Sin sus aportes no hubiera sido posible realizar este trabajo.

El autor desea dejar constancia expresa de su gratitud a todo el personal de los laboratorios de investigación dermatológica en el Hospital Vargas de Caracas, mantenidos y administrados por la Asociación para la Investigación Dermatológica, cuyo desarrollo ha sido posible gracias a una importante donación de los "National Institutes of Health" ("Grant" No AI-04216-03-GM) .

El estudio de la citotoxicidad del principio activo del "coco de mono" se realizó en colaboración con el Dr. Lewis Aronow, Profesor Asociado de Farmacología de la Escuela de Medicina de la Universidad de Stanford, Palo Alto, California, quien durante su año sabático desempeñó el cargo de Profesor Visitante de Farmacología en la Escuela José Vargas de la Universidad Central de Venezuela, y se interesó vivamente en este problema, de su especial competencia,

Los trabajos sobre aislamiento del principio activo fueron realizados en el laboratorio de bioquímica, unidad fundamental del grupo de laboratorios de investigación dermatológica, bajo la dirección del bioquímico Fritz Wagner, quien colaboró activamente en este proyecto.

La determinación de la estructura química del principio activo del "coco de mono", aislado en forma pura en nuestros laboratorios, fue llevada a cabo en el Instituto de Investigaciones de los Laboratorios Wyeth, en Radnor, Pennsylvania, por un competente grupo de investigadores, los Dres. P. B. Russell, N. H. Grant y H. E. Alburn, y los señores D. E. Clark y J. A. Miller.

La parte de histopatología de los órganos internos de los animales sometidos a la acción del extracto acuoso de "coco de mono", contó con la valiosa cooperación de los Dres. E. Essensfeld, anatomopatólogo, y J. Castellano, residente de dermatología.

Quiero hacer mi agradecimiento extensivo a los Laboratorios Wyeth de Venezuela, en la persona de su director Sr. O. Herring, por su espíritu de colaboración y servicio, y a los Sres. J. M. Escrivá y J. Lariot, quienes nos ayudaron a obtener semillas de "coco de mono" en sitios extraviados y distantes.

Igualmente al Dr. J. Convit y a la División de Dermatología Sanitaria, y especialmente el Dr. R. Moulinier, por su ayuda en la obtención de semillas de los sitios seleccionados.

Y finalmente, mis cumplidas gracias al biólogo R. Hernández, a los técnicos Virginia Romero y Catalina Suprani, al fotógrafo J. Romero, a la secretaria María del Carmen Bolaños, y a todas las otras personas que nos prestaron apoyo y colaboración para hacer factible esta modesta contribución.

BIBLIOGRAFIA

1. Adamicska, O.: Informe médico del examen general del caso 2.
2. Alvarado, L.: Glosario de Voces Indígenas, Manrique & Ramírez Angel, Caracas, 1921.
3. Archer, V. E. y Luell, E.: Effect of selenium sulfide suspension on hair roots. J. Invest. Derm., 35-65-67, 1960.
4. Aronow, L.: J. Pharm. Exp. Therap. 127: 116, 1959.
5. Aronow, L. y Kerdel-Vegas, F.: Seleno-Cystathionine, a Pharmacologically Active Factor in the Seeds of *Lecythis ollaria*. I. Cytotoxic and Depilatory Effect of Extracts of *Lecythis ollaria*. Nature, 205:1185-1186, 20 Marzo, 1965.
6. Astorga, R. V. V.: La Flora Médica de Venezuela, III Cong. Ven, de Med. 1921.
7. Benítez, J. M.: Principios para la Materia Médica del País, Venezuela Farmacéutica.
8. Bereston, E. S.: Use of Selenium Sulfide Shampoo in Seborrheic Dermatitis, J. A. M. A. 156: 1246-1247, Nov. 27, 1954. N° 98, 1935.
9. Brewer, H. B. and Aronow, L.: Can Res. 23: 285, 1963.
10. Cantarow, A. y Schepartz, B.: Biochemistry (tercera edición). W. B. Saunders Company, Philadelphia, 1962.
11. Carpio, G., F.: Comunicación personal.
12. Castañeda, R. R.: Frutas Silvestres de Colombia, Vol. I, Librería Colombiana, Bogotá, 1961.
13. Catálogo de la Flora Venezolana, 31 Conf. Int, de Agri., Caracas, 1946, Tomo 20 y 57.
14. Cerwenka, E. A. y Cooper, W. C.: Toxicology of Selenium and Tellurium and their Compounds, A. M. A. Arch. Environmental Health. 3:189-200, 1961.

15. Correa, Pío: Diccionario de Plantas Útiles del Brasil, Edit. Imprenta Nacional, Río de Janeiro, 1946.
16. Costa, O.: Comunicación personal; información del Profesor Remó.
17. Crounse, R. G., Maxwell, J. D., Blank, H.: Inhibition of Growth of Hair by Mimosine, Nature, Volume 194:694-695, Mayo 19, 1962.
18. Dao L., L.: Alopecia de evolución rápida y simultánea en dos hermanos. Rev. Pol. Caracas, XVI, 81-154-161, 1945.
19. Dao L., L.: Experiencias sobre enfermedades tropicales en zonas rurales de Venezuela, Corporación Universo, Caracas, 1958.
20. Descourtilz, J. Th.: Pageantry of Tropical Birds. A. Zwemmer Ltd. London, 1960.
21. Downel, P. F. y Black, S.: A New Naturally Occurring Isomer of betaMethylanthionine. J. of Bio. Chem. 228:171-179, 1957.
22. Eagle, H.: Science 122: 501, 1955.
23. Eagle, H. Foley, G. E.: Amer. J. Med. 21: 739, 1956.
24. Flesch, P.: Hair Growth. En S. Rothman, "Physiology and Biochemistry of the Skin". Illinois, University of Chicago Press, 1955.
25. Flesch, P.: Inhibition of Keratinizing Structures by Systemic Drugs. Pharmacol. Rev. 15:653-671, 1963.
26. Fonsagrives, J. B.: Tratado de Materia Médica, París, 1876.
27. Gerritsen, T. y Waisman, H. A.: Homocystinuria: Absence of Cystathionine in the Brain, Science, 145:588, Agosto 7, 1964.
28. Goncalves, A. P.: Comunicación personal; información del Profesor Castellanos.
29. González Vera, P.: Breves consideraciones acerca del Coco de Mono y sus propiedades, Universidad Central de Venezuela, Caracas, 1936.
30. Grover, R. W.: Diffuse hair loss associated with selenium (Selsun) sulfide shampoo. J. A. M. A., 160:1397-1938, 1956.
31. Hoehne: Plantas e Substancias Vegetais Toxicas e Medicinaiis. Sao Paulo, 1939.
32. Horn, M. y Jones, D. B.: Isolation from Astragalus pectinatus of a Crystalline Amino Acid Complex Contining Selenium and Sulfpr. J. of Bio. Chem. 139:649660, 1941.
33. Howes, F. N.: Nuts, their production & everyday uses. Faber & Faber Ltd., London, 2nd. ed 1958.
34. Jacquín: Amer. Pict., p. 109, 1763.
35. Kerdel-Vegas, F.: Caída del pelo generalizada debida a la ingestión de "Coco de Mono" (Lecythis ollaria), Bol. de la Acad. de Cienc. Fís., Mat. y Nat. XXIII, Nº 64:9-28, 1963.
36. Kerdel-Vegas, F.: Generalized Hair Loss due to the Ingestion of "Coco de Mono" (Lecythis ollaria), J. Invest. Dermat., 42:91-94, 1964.
37. Kerdel-Vegas, F., Wagner, F., Russell, P. B., Grant, N. H., Albur, H. E., Clark, D. E. Miller, J. A.: Seleno-Cystathionine, a Pharmacologically Active Factor in the Seeds of Lecythis

- ollaria II. Structure of the Pharmacologically Active Factor in the Seeds of *Lecythis ollaria*, *Nature*, 205:1186-1187, 29 Marzo, 1965.
38. Kleiner, I. S. y Orten, J. M.: *Biochemistry*, The C. V. Mosby Company, St. Louis, 1962.
 39. Lasser, T.: Comunicación personal.
 40. Machado, G. H.: Informe médico del examen general del caso, obs. K. V.
 41. Maguire, H. C. Jr. y Kligman, A. M.: Lack of toxicity of selenium sulfide suspension of hair roots. *J. Invest. Dermat.*, 39:69-70, 1962.
 42. Menninger, E. A.: *Flowering Trees of the World*. Hearthsides Press, Inc., New York, 1962.
 43. Mercer, E. H.: *Keratin and Keratinization*. Pergamon Press, New York, 1961.
 44. Montagna, W. y Fun, J. S.: The Effects of the Seeds of *Leucaena glauca* on the Hair Follicles of the Mouse. *J. Invest. Dermat.* 40:325-332, 1963.
 45. Montgomery, H.: Comunicación personal.
 46. Morton, J.: Comunicación personal.
 47. Moxon, A. L. y Rhian, M.: Selenium Poisoning. *Phys. Rev.* 23:305-337, 1943.
 48. Mozingo, R., Wolf, D. E., Harris, S. A., Folkers K.: Hydrogenolysis of Sulfur Compounds by Raney Nickel Catalyst. *Am. Chem. Soc.* 65:1013-1016, 1943.
 49. Oropeza, P.: Comunicación personal.
 50. Painter, E. P.: The Chemistry and Toxicity of Selenium Compounds, with Special Reference to the Selenium Problem. *Chem. Rev.* 28:179-213, 1941.
 51. Painter, E. P.: New Syntheses of the Selenium Analogs of dl-Cystine and Cysteine Derivatives. *J. of Am. Chem. Soc.* 69:229-232, 1947.
 52. Painter, E. P.: A. Synthesis of Selenium Analogs of dl-Methionine and dl-Homocystine, *J. of Am. Chem. Soc.* 69:232-234, 1947.
 53. Pérez Arbeláez, E.: *Plantas Útiles de Colombia*. Sucesores de Rivadeneyra, Madrid, 1956.
 54. Peterson, P. J. y Butler, G. W.: Paper Chromatographic and Electrophoretic Systems for the Identification of Sulphur and Selenium Amino Acids. *J. of Chromatography.* 8:70-74, 1962.
 55. Pittier, H.: *Plantas Usuales de Venezuela*. Lt. del Comercio, p. 158, Caracas, 1926.
 56. Pittier, H.: *Suplemento a las Plantas Usuales de Venezuela*. Editorial Elite, Caracas, 1939.
 57. Ransone, J. W., Scot, N. M. Jr. y Knoblock, E. C.: Selenium sulfide intoxication. *New Engl. J. Med.*, 264:384-385, 1961.
 58. Rosen, H.: A Modified Ninhydrin Colorimetric Analysis for Amino Acids. *Arch of Bioch. and Bioph.* 67:10-15, 1957.
 59. Russell, P. B.: Comunicación personal.
 60. Rothman, S.: *Physiology and Biochemistry of the Skin*. University of Chicago Press Chicago, 1954.
 61. Sanford, K. K., Earle, W. R., and Likely, G. D.: *J. nat. Cancer Inst.* 9:229, 1948.

62. Schwarz, K. y Foltz, C.: Factor 3 Activity of Selenium Compounds. *J. Biol. Chem.* 233:245-251, 1958.
63. Shrift, A. y Virupaksha, T. K.: Biosynthesis of Se-methylselenocysteine from selenite in selenium-accumulating plants. *Biochem. Biophys. Acta*, 71:483485, 1963.
64. Shrift, A.: A Selenium Cycle in Nature, *Nature*, 201:1304-1304, 1964.
65. Sidi, E. y Bourgeois-Spinasse: The most frequent present cause of female alopecias. *La Presse Medicale*, 66:1767, 1958. (Citado por Archer y Luell).
66. Skog, E.: Influence of selenium disulfide on sebaceous glands volume in guinea pigs. *Acta dermat. venereol.* 38:15-19, 1958.
67. Thyresson, N.: The influence of dietary factors, especially brewer's yeast, cystine and B vitamins, on the course of chronic thallium poisoning in the rat. *Acta der.-venereol.* 30:9-26, 1950.
68. Thyresson, N.: Experimental investigation of thallium poisoning. Influence of thallium in tissue metabolism. *Acta derm.-venereol.* 30:417-441, 1950.
69. Thyresson, N.: Experimental investigation of poisoning in the rat. Distribution of thallium especially in the skin, and excretion of thallium under different experimental conditions. A study with the use of the radioactive isotope TI 204. *Acta derm.-venereol.* 31:3-27, 1951.
70. Thyresson, N.: Experimental investigation of thallium poisoning. Effect of thallium on the growth and differentiation of hair and epidermis, studied in young rats and tissue cultures of embryonic rat skin. *Acta derm.-venereol.* 31:133146, 1951.
71. Thyresson, N.: Effect of thallium on the growth of tactile hair in the white rat. *Acta derm.-venereol.* 32: supl. 29:370-375, 1952.
72. Van Scott, E. J., Reinerton, R. P. y Steinmuller, R.: The growing hair roots of the human scalp and morphologic changes therein following amethopterin therapy. *J. Invest. Dermat.*, 29:197-204, 1957.
73. Van Scott, E. J. y Reinerton, R. P.: Detection of radiation effects on hair roots of the human scalp. *J. Invest. Dermat.*, 29:205-212, 1957.
74. Vélez-Boza, F.: Cuatro Observaciones clínicas de los efectos producidos por la ingestión de las semillas de "Coco de Mono". *Mem. Soc. Cienc. Nat. La Salle*, Año III, N° 8, p. 28, Sept. Die., 1943.
75. Vélez Salas, F.: *Plantas Medicinales de Venezuela*, p. 175-182, Edit. Las Novedades, Caracas, 1959.
76. Vegas, M.: Acción depilatoria del "Coco de Mono". *Rev. Pol. Caracas*, N° 27, p. 1843-1845, Abril 1936.
77. Virupaksha, T. K. y Shrift, A.: Biosynthesis of selenocystathionine from selenate in *Stanleya pinnata*. *Biochem. Biophys. Acta*, 74:791-793, 1963.
78. Wilson, H. M.: Selenium Oxide Poisoning. *South Carolina Med. J.* 23:73-75, 1962. 185