

ASPECTOS NEUROPATOLÓGICOS DE LA INTOXICACION
CON KARWINSKIA HUMBOLDTIANA
ESTUDIO EXPERIMENTAL*

DR. ALFONSO ESCOBAR IZQUIERDO**
DR. DIONISIO NIETO**

LA *karwinskia humboldtiana*, popularmente conocida como *tullidora*, *capulín tullidor*, *cacachila*, *chanchanote*, *coyotillo de Texas*, etc., es un arbusto silvestre cuyo fruto, una drupa, es capaz de provocar parálisis en los individuos que, por ignorancia, lo ingieren. El principio activo que ejerce los efectos tóxicos sobre el sistema nervioso, cuya composición química se desconoce, se encuentra en el endocarpo de la drupa, parece ser hidrosoluble disolviéndose en la saliva, ya que este capulín no se come ni se mastica sino solamente se chupa. El arbusto se encuentra ampliamente distribuido en toda la parte central y norte de la República Mexicana, extendiéndose hasta el sur de los Estados Unidos de Norteamérica.

El cuadro clínico se instala aproximadamente dos a tres semanas después de la ingestión de la fruta de la tullidora, iniciándose la parálisis en las extremidades inferiores de donde asciende progresivamente afectando a los segmentos superiores del cuerpo, hasta presentarse parálisis bulbar que puede ocasionar la muerte. Si el sujeto afectado sobrevive, la recuperación se hace paulatinamente, en forma espontánea, desapareciendo la parálisis en orden contrario al de aparición, lentamente hasta obtenerse recuperación funcional completa sin que queden secuelas; el período de recuperación puede durar hasta un año. Por supuesto existen variaciones individuales entre los diferentes casos en lo que se refiere a duración, gravedad y extensión de la parálisis. El cuadro clínico presenta cierta similitud con el de la poliomieltis y los cuadros de poli-radículo-neuritis debidos a otras causas, ya que la parálisis por tullidora es también flácida, pero el examen clínico cuidadoso permite establecer el diagnóstico diferencial.

* Trabajo presentado por sus autores en la sesión ordinaria del 14 de octubre de 1964.

** Departamento de Neuropatología del Instituto de Estudios Médicos y Biológicos, de la Universidad Nacional Autónoma de México, México 20, D. F.

Existe en México una bibliografía extensa sobre este tema, principalmente sobre los aspectos clínicos. La primera descripción que se conoce la hizo Clavijero⁴ en el siglo XVIII; fue descrita también por Sosa,²⁰ Cuiltly⁵ y Godoy.¹¹ La contribución clínica más completa es la de Castillo Nájera³ y, más recientemente, Padrón¹⁸ ha contribuido con el estudio de 16 casos en niños.

Hasta ahora no se ha hecho una descripción de las lesiones que se producen en el tejido nervioso en los casos humanos fatales. Castillo Nájera menciona en su comunicación³ haber practicado tres autopsias en las que por el examen macroscópico no encontró "lesiones visibles en la médula, meninges o cerebro y sólo ligera disminución en el volumen de algunos nervios periféricos". Ese autor concluyó, basándose en el estudio clínico, que seguramente se trataba de una *polineuritis tóxica* y no de lesiones de la médula espinal, ya que los enfermos que curaban mostraban una recuperación funcional completa, y los muy graves fallecían debido a "lesiones de los nervios de origen bulbotuberanciales, como sucede en otras polineuritis". En 1956, Padrón y Velázquez¹⁹ efectuaron un estudio experimental en conejos. El examen anatomopatológico de los animales paralizados mostró lesiones neuronales localizadas a las astas anteriores de la médula espinal principalmente, aunque también observaron lesiones difusas en las células de Purkinje del cerebelo, en los núcleos del puente y en los núcleos grises; en la corteza cerebral sólo observaron neuronas alteradas en regiones circunscritas. Ellos interpretaron esas lesiones como "correspondientes a reacción de células nerviosas a agentes tóxicos... que tienen semejanzas con las que se observan en la poliomielitis aunque no se observan fenómenos inflamatorios". Inexplicablemente los nervios periféricos no fueron examinados.

A principios de la década pasada, el Dr. Efrén C. del Pozo⁶ llevó a cabo una serie de estudios fisiológicos que le permitieron comprobar que en los animales paralizados había alteraciones claras en la conducción de los nervios periféricos. A iniciativa del propio Del Pozo se inició un estudio sistemático de los diferentes aspectos de la intoxicación por *karwinskia humboldtiana*. Una parte de este estudio comprende el estudio neuropatológico en los animales paralizados, tema que constituye el motivo de esta comunicación.

MATERIAL Y MÉTODOS

El estudio incluye solamente cuatro gatos adultos y seis ratas blancas. Cada uno de los animales recibió una sola dosis, por vía oral a través de sonda de hule, de papilla preparada con la semilla (endocarpo leñoso y almendra) de la drupa de la tullidora.* La dosis para los gatos fue de 5 gramos y para las ratas, de 1 gramo.

Los animales se sacrificaron por medio de una dosis masiva de nembutal, por

vía intraperitoneal. La fijación del cerebro, médula y nervios periféricos (ciático, plexo braquial), se hizo en formol al 10 por ciento. Previamente a la fijación los nervios periféricos se ataron a los extremos de una varilla de vidrio para evitar distorsión y retracción. Los cortes por congelación e incluidos en parafina se sometieron a diversos procedimientos para estudio microscópico, *v.g.* método de Klüver y Barrera para mielina y células nerviosas,¹⁵ de Einarson para ácidos



FIG. 1. Rata paralizada de las patas posteriores a los 6 días de la ingestión de un gramo de papilla de *Karwinskia humboldtiana*.

nucleicos,⁷ de Nissl con tionina al 0.1%,¹⁶ la modificación de Swank y Davenport²¹ al método de Marchi para mielina degenerada, y el de Winkelmann para cilindroejes.²²

RESULTADOS

Evolución clínica. A los 6 u 8 días de administrada la papilla de semilla de tullidora, todos los animales mostraron incoordinación motora en el tren posterior seguida rápidamente de parálisis flácida. En este período los animales se desplazaban arrastrándose por medio del tren anterior. La parálisis ascendió progresivamente hasta afectar las extremidades anteriores, en aproximadamente 48 a 72 horas. Durante el período de instalación de la parálisis los animales mostraban cierto grado de inquietud y se mantenían con los ojos abiertos, lo que desapareció al establecerse la parálisis. En los gatos se observó, además, disfonía

* La preparación de la papilla y la administración a los animales estuvo a cargo del Dr. Guillermo Anguiano Landín, del Depto. de Bioquímica del Instituto de Estudios Médicos y Biológicos de la UNAM.

y en dos de ellos afonía. En los animales ya completamente paralizados había signos de dificultad respiratoria. Con excepción de dos de los gatos que se sacrificaron cuando la parálisis afectaba sólo a los miembros posteriores, el resto de los animales se sacrificó cuando ya se había desarrollado cuadriplejía. (Fig. 1).

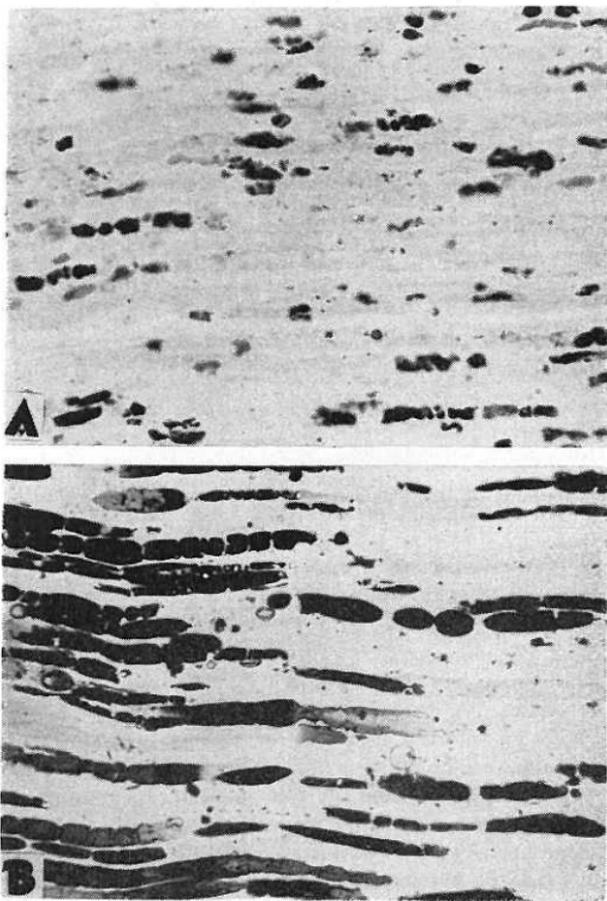


FIG. 2. Lesiones de los nervios periféricos en los animales paralizados por *Karwinskia humboldtiana*. (Método de Swank y Davenport). Microfotografías a mediano aumento del nervio ciático de rata (A) y de gato (B), paralizados durante 2 y 6 días respectivamente. Nótese que las lesiones son más extensas en el nervio del animal paralizado durante más días. El patrón segmentario de la degeneración miélica es muy aparente.

ESTUDIO MICROSCÓPICO

A) *Nervios periféricos*. Se observaron áreas de degeneración mielínica, abundantes e irregularmente distribuidas entre los haces de fibras, localizadas a

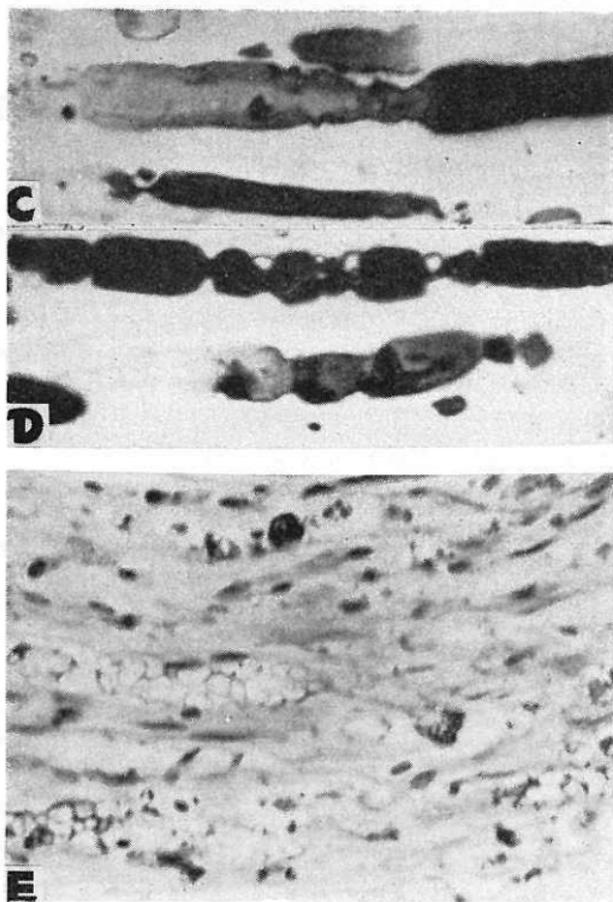


FIG. 3. Lesiones de los nervios periféricos en los animales paralizados por *Karwinskia humboldtiana*. C y D. Microfotografías a mayor aumento de las lesiones que se ilustran en la Fig. 2, B. Obsérvese en C el carácter progresivo de la degeneración de la mielina del segmento de la derecha hacia el de la izquierda. En D se ilustra la formación de vesículas en una fibra degenerada y el comienzo de la degeneración en la que está debajo. La microfotografía en E muestra la desmielinización de las vainas (Mét. de Klüver y Barrera).

uno o varios segmentos internodales en una misma fibra nerviosa, alternando con tramos de mielina normal. Los axones estaban igualmente degenerados en dis-

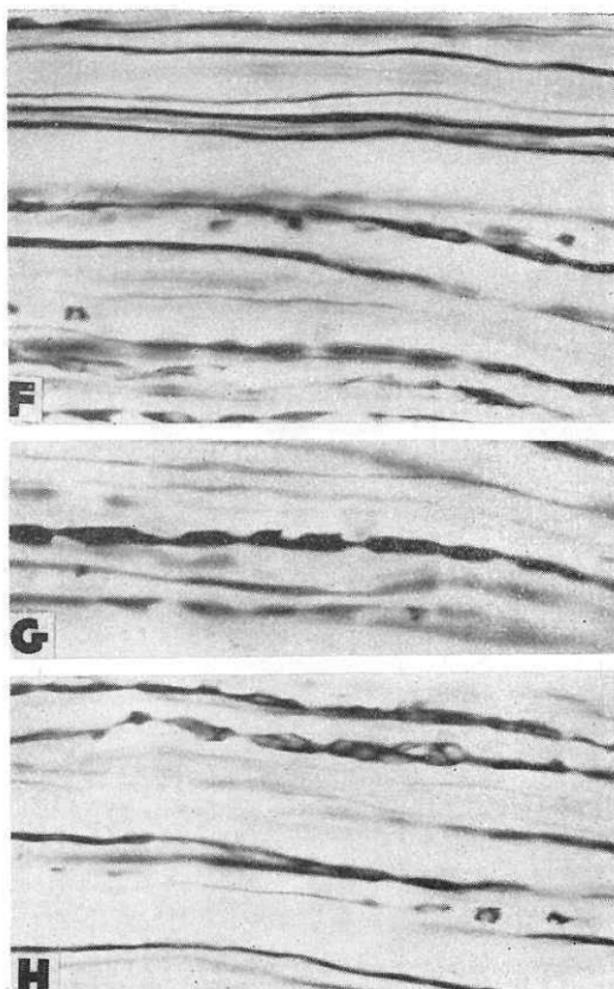


FIG. 4. Lesiones de los nervios periféricos en los animales paralizados por *Karwinskia humboldtiana* (Método de Winkelman). Diversos aspectos de los cilindroejes degenerados: engrosamiento y formación de vesículas (F), comienzo de fragmentación (G) y formación de vesículas y fragmentación (H).

tintos grados, observándose cilindroejes engrosados, con nudosidades irregulares que les daban aspecto arrosariado, vacuolización y fragmentación completa (Figs. 2, 3 y 4). Las lesiones degenerativas se observaron de igual manera en las fibras gruesas y en las delgadas. Las células de la vaina de Schwann mostraban

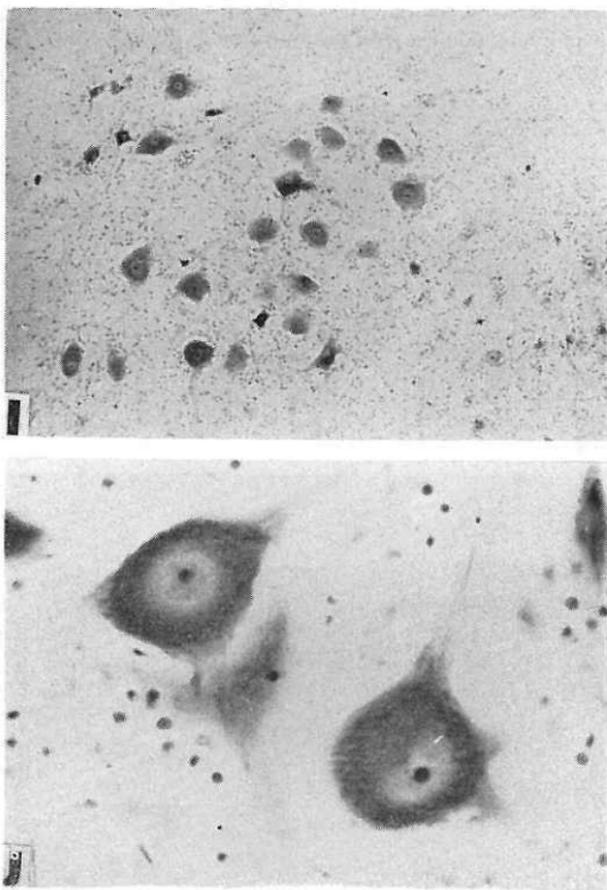


FIG. 5. Lesiones neuronales en la médula espinal de los animales paralizados por *Karwinskia humboldtiana* (Método de Nissl). (I) Microfotografía panorámica del asta anterior del engrosamiento lumbar. Nótese las diversas lesiones neuronales; en el ángulo inferior derecho se pueden ver imágenes de neuronas en necrobiosis. (J) muestra dos motoneuronas con reacción axonal temprana: cromatolisis alrededor del núcleo y discreto edema del soma neuronal.

proliferación y, en ocasiones, la vaina estaba totalmente desintegrada (Fig. 3-E). Topográficamente los fenómenos degenerativos en los troncos nerviosos se encontraron tanto en las porciones distales como en las proximales a la médula espinal. Las alteraciones fueron más extensas y de mayor intensidad en los animales en los que la parálisis duró mayor tiempo.

B) *Sistema nervioso central*. (Figs. 5, 6 y 7). Las imágenes de lesión neuronal fueron muy abundantes y de distintos grados de intensidad. En un mismo

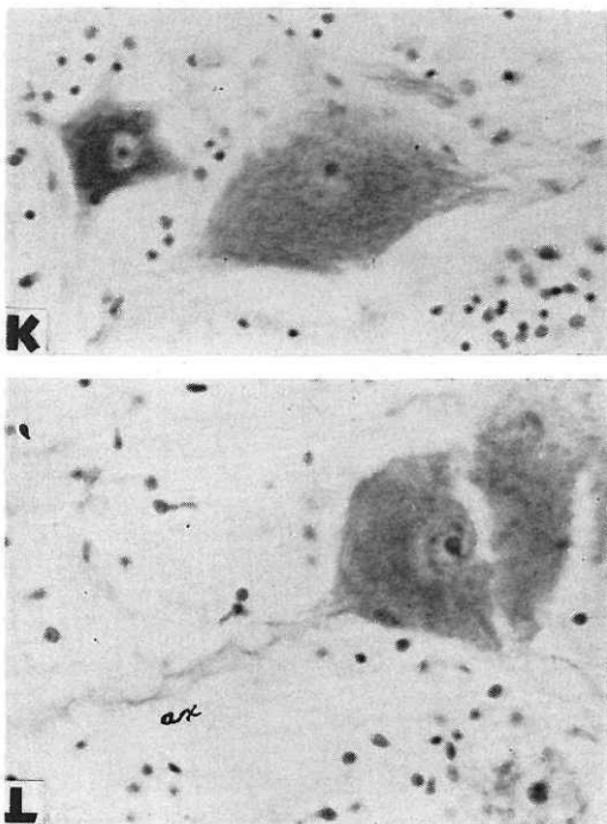


FIG. 6. Lesiones neuronales en la médula espinal de los animales paralizados por *Karwinskia humboldtiana* (Método de Nissl). (M) neurona motora con reacción axonal observa hiper cromatismo del soma y desplazamiento del núcleo hacia la periferia (K), y formación de vacuolas en el axón (ax) de la neurona en (L).

animal y en un mismo segmento espinal se pudieron observar lesiones de varios tipos. Las neuronas se mostraban con tumefacción marcada del soma, hiperromatismo del citoplasma y con el núcleo desplazado hacia la periferia; en otras había disolución de los grumos de Nissl que hacía aparecer el citoplasma pálido y homogéneo o bien acromático; en los animales más gravemente afectados predominaban las neuronas en necrobiosis, con formación de vacuolas en el citoplasma y picnosis del núcleo. La glía satélite mostró discreta proliferación, sobre todo alrededor de las neuronas más severamente afectadas. Los fascículos

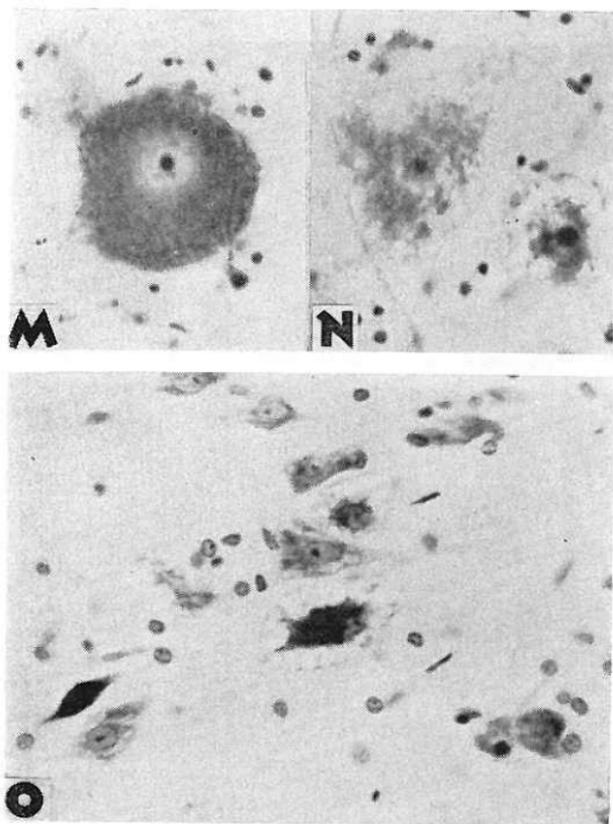


FIG. 7. Lesiones neuronales en la médula espinal de los animales paralizados por *Karwinskia humboldtiana* (Método de Nissl). (M) neurona motora con reacción axonal temprana, (N) neuronas en necrobiosis. (O) grupo de neuronas que muestran formación de vacuolas en el citoplasma.

de la sustancia blanca de la médula espinal y de otros niveles del cerebro no mostraron alteraciones apreciables.

Las alteraciones neuronales en la médula espinal se localizaron topográficamente a las motoneuronas de las astas anteriores, principalmente en los núcleos laterales de los engrosamientos lumbar y cervical. En los animales más gravemente paralizados las lesiones neuronales se pudieron observar en todos los segmentos de la médula espinal.

En los ganglios raquídeos se observaron alteraciones neuronales muy semejantes a las vistas en las astas anteriores de la médula espinal, aunque en menor número y severidad. (Fig. 8).

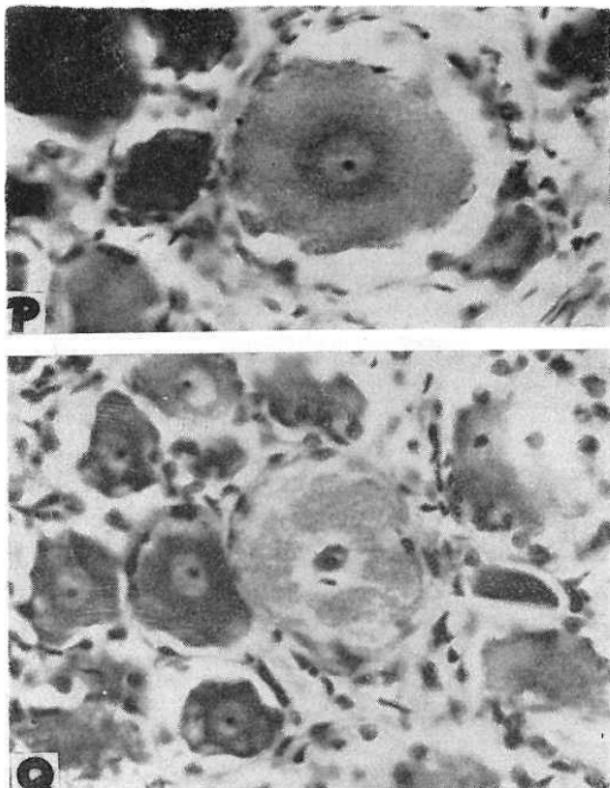


FIG. 8. Lesiones neuronales en los ganglios raquídeos de los animales paralizados por *Karwinskia humboldtiana* (Método de Nissl). (P) neurona con halo hiper Cromático alrededor del núcleo, signo morfológico de hiperactividad. (Q) neurona en necrobiosis, nótese la picnosis del núcleo.

En las folias cerebelosas había células de Purkinje con homogeinización del citoplasma y picnosis del núcleo, distribuidas irregularmente. Lesiones neuronales semejantes fueron vistas también en la corteza cerebral y en los núcleos de la formación reticular del tronco cerebral.

Los capilares intraparenquimatosos conservaban su estructura normal y sólo se apreció congestión al igual que en los vasos de las meninges espinales. En ningún caso se detectó la presencia de fenómenos inflamatorios en el tejido nervioso.

COMENTARIO

Es necesario considerar las características y la topografía de las lesiones observadas para poder establecer una interpretación correcta.

Los fenómenos degenerativos en los nervios periféricos corresponden a los de una *neuropatía desmielinizante segmentaria*. Este tipo de neuropatía fue descrita primeramente por Gombault en 1880¹² con el nombre de *neuritis periaxial segmentaria*, en cobayos intoxicados experimentalmente con sales de plomo. La designación de *neuropatía desmielinizante segmentaria* fue introducida por Fisher y Adams¹⁰ en 1956, para referirse a las lesiones que se observan en los casos de neuropatía causada por la toxina diftérica, la que provoca desmielinización en la fibra nerviosa por ataque directo a la célula de Schwann. El mecanismo intrínseco que determina la aparición del proceso degenerativo, en este tipo de neuropatías no se conoce con precisión, aunque se acepta¹⁴ que los agentes nocivos (toxinas, venenos metálicos u orgánicos) interfieren con el ciclo de Krebs en la fibra nerviosa.

Las alteraciones neuronales en las astas anteriores de la médula espinal y en los ganglios raquídeos se deben interpretar como secundarias a la degeneración de los axones en los nervios periféricos. Los cambios morfológicos en la neurona, secundarios a la degeneración, se conocen desde 1892 en que Franz Nissl¹⁷ los describió con toda precisión con el nombre de *irritación primaria (primäre Reizung)*. Estos cambios se conocen también como *degeneración retrógrada o reacción axonal*. Estas alteraciones se observan muy claramente en las neuronas motoras, sobre todo en animales jóvenes, y se inician aproximadamente 48 horas después de lesionado el axón. Si la lesión está bastante lejos del soma de la neurona, la reacción axonal es reversible, la neurona recupera sus características normales; pero si la lesión del axón está cerca del soma, la reacción axonal en la neurona progresa hasta la necrobiosis. Los estudios de Einarson,^{8, 9} Brattgard, Edström y Hydén,² han demostrado que la degeneración retrógrada o irritación primaria de Nissl constituye una *reacción de crecimiento*, para regenerar el cilindroeje, que trae como consecuencia un aumento considerable del consumo y resíntesis del ácido ribosa-nucleico y de las proteínas nucleolares y citoplasmá-

ticas. Cuando la lesión del axón es muy extensa, p.e del 75 por ciento, la neurona se desintegra por agotamiento total del ARN.

Por lo que se refiere a las lesiones neuronales en el cerebelo, corteza cerebral y formación reticular, constituyen alteraciones totalmente inespecíficas y se presentan, entre otras causas, vinculadas a fenómenos anóxicos.¹³ Puesto que los animales paralizados tenían deficiencia respiratoria, y por ende fenómenos hipóxicos a nivel tisular, debe suponerse que esta fue la causa de esas lesiones.

Sobre la base de los datos antes expuestos se puede establecer con certeza que los hallazgos neuropatológicos en los animales intoxicados con *Karwinskia Humboldtiana*, corresponden a degeneración de las fibras nerviosas periféricas, del tipo de la *neuropatía desmielinizante segmentaria*, causada por el efecto que sobre ellas ejerce el veneno que contiene la semilla de la *Karwinskia*. El veneno no parece tener efectos directos sobre el tejido nervioso central, en el material que hemos estudiado, ya que las lesiones neuronales que se observan son secundarias a la lesión de los axones a que dan origen; más aún, la ausencia de desmielinización en los fascículos espinales apoya esta conclusión. Esta interpretación difiere de la expuesta por Padrón y Velázquez,¹⁹ los que consideraron las lesiones neuronales en la médula espinal como lesiones primarias, interpretación injustificada porque esos autores no estudiaron los nervios periféricos.

Resulta de interés mencionar también, en apoyo a la interpretación que aquí se expone, que las observaciones clínicas en casos humanos^{3, 18} concuerdan en que si la intoxicación no es muy intensa la recuperación funcional es total sin que queden secuelas de parálisis motora, lo que sólo es posible en las neuropatías periféricas ya que las neuronas pueden, en estos casos, regenerar sus axones. Esto último no sucedería en caso alguno si el factor tóxico de la *Karwinskia Humboldtiana* actuase directamente sobre las neuronas espinales destruyéndolas. Aunque ya hemos mencionado que hasta ahora no existen descripciones neuropatológicas de casos humanos, el hecho de que el cuadro clínico que se observa se reproduce exactamente en los animales de experimentación, permite suponer que iguales lesiones se desarrollan en los seres humanos y que el diagnóstico de polineuritis tóxica que Castillo Nájera³ estableció en los casos vistos por él, era correcto. No hay duda de que la gravedad y el pronóstico de la parálisis están relacionados directamente con la dosis, esto es, a dosis grandes mayor destrucción de fibras nerviosas periféricas y, por lo tanto, mayor probabilidad de necrobiosis neuronal secundaria que reduce la posibilidad de recuperación motora si el individuo sobrevive.

En las observaciones clínicas de casos humanos se asienta que la sensibilidad no está alterada.^{3, 18, 19} En los animales de experimentación que hemos estudiado, la presencia de signos de degeneración tanto en fibras delgadas como en fibras gruesas y las imágenes de reacción axonal en los ganglios raquídeos, indican que el factor tóxico daña no solamente a las fibras motoras sino también a las

fibras sensitivas, aunque en menor magnitud a estas últimas. Es posible que la diferencia entre los animales de experimentación y los casos clínicos se deba o esté en relación con la magnitud de la dosis administrada. Sin embargo, a este respecto no podemos establecer conclusiones definitivas con los datos obtenidos hasta ahora.

Queremos aclarar que este estudio no resuelve todos los aspectos neuropatológicos del problema, p.e no se puede descartar la posibilidad de que el factor tóxico tenga efectos centrales cuando se emplean dosis más altas; asimismo deben precisarse las alteraciones que ocurren en el sistema nervioso autónomo. Se debe continuar la investigación para aislar e identificar el factor tóxico que contiene la semilla de esta planta. La obtención de la sustancia activa permitiría efectuar experimentos con dosis constantes para el estudio de los fenómenos degenerativos de fibras nerviosas periféricas y obtener datos sobre la patogenia de las neuropatías tóxicas, hasta ahora no bien conocida, y quizás aclarar algunos aspectos de los fenómenos de desmielinización. Anguiano¹ piensa que el factor tóxico es una sustancia liposoluble; él ha observado que los extractos clorofórmicos son más activos que los extractos acuosos. Si esto se confirma es posible que la desmielinización se pueda explicar como un fenómeno de "competencia" entre el factor tóxico liposoluble y las sustancias lipoides de la vaina de mielina. Estas interrogantes y otras que surjan en el curso de este estudio, quizás puedan ser contestadas en el futuro.

RESUMEN

La administración por vía oral, a gatos y ratas, de papilla del hueso de la fruta de la "tullidora" (*Karwinskia humboldtiana*) produce seis a ocho días después parálisis flácida del tren posterior, que se extiende progresivamente al tren anterior, y signos de parálisis bulbar. El estudio histológico demuestra lesiones en los nervios periféricos que corresponden a los de una *neuropatía desmielinizante segmentaria*; en las neuronas de las astas anteriores de la médula espinal, secundarias a la degeneración de los axones periféricos; y lesiones neuronales inespecíficas en el cerebelo, corteza cerebral y formación reticular, posiblemente debidas a anoxia. Por los resultados obtenidos en este estudio experimental se puede establecer que el veneno que contiene la semilla de la *Karwinskia* ejerce su efecto sobre los nervios periféricos, aunque no puede descartarse definitivamente la posibilidad de que también posea efectos centrales cuando se administren dosis más grandes.

SUMMARY

Karwinskia humboldtiana is a poisonous shrub of the buckthorn family that grows in central and northern Mexico and southwestern United States. The ac-

cidental ingestion of its fruit, a drupe, produces within two or three weeks as ascending flaccid paralysis which depending on the severity of the intoxication may progress to bulbar paralysis ending in death of the patient, or may slowly regress to a complete recovery. It has been the subject of well documented reports in the past, the first one that of Clavijero,⁴ in 1789, and those of Cuiltly⁵, Godoy¹¹ and Sosa.²⁰ An excellent clinical study of 106 human cases was presented by Castillo-Nájera³ in 1918, and more recently it has been studied both clinically and experimentally by Padrón¹⁸ and Padrón and Velázquez.¹⁹ At the beginning of the last decade Del Pozo⁶ obtained experimental evidence that there was impairment of conduction in the peripheral nerves of the paralyzed animals.

Although the diagnosis of *toxic polyneuritis* was established on the basis of clinical studies alone,³ anatomical studies of human material are not available to support it. Moreover the neuropathologic examination of experimental animals¹⁹ was incomplete since the peripheral nerves were not studied.

The present investigation was undertaken with the purpose of elucidating the neuropathological changes elicited by the poison of *Karwinskia humboldtiana*. The results of this study are presented here.

A single dose of finely ground endocarp of the drupe of *Karwinskia humboldtiana* was given by mouth to four cats and six albino rats (5 grams and 1 gram respectively). Six to eight days later the animals showed signs of flaccid paralysis of the hind limbs, which rapidly extended to the anterior limbs. Signs of bulbar involvement developed in the most severely affected animals. Two of the animals were sacrificed when the paralysis was limited to the hind limbs. The others were sacrificed when quadriplegia was evident.

Microscopic findings included: *a*) widespread peripheral nerve degeneration characterized by axon beading, vacuolation and fragmentation, with concomitant demyelination affecting one or several internodal segments in some fibers or total demyelination in others, a picture very much alike to that seen in diphtheritic or in lead neuropathy and called *segmental demyelinating neuropathy*,¹⁰ with more than extensive axonal degeneration; *b*) severe secondary *axonal reaction* (Nissl's primary irritation) of neurons of the anterior horns, and similar changes but of lesser degree in the cells of the dorsal root ganglia, leading to necrobiosis of many of the affected neurons; *c*) unspecific neuronal changes in the cerebellar cortex, cerebral cortex and nuclei of the reticular formation, most likely due to terminal anoxia.

These observations allow to conclude that the poison of the drupe of *Karwinskia humboldtiana* exerts its toxic effects primarily upon the peripheral nerves, being quite unlikely that it may have any action upon the central neurons, although this latter possibility cannot be completely discarded solely on the basis of this study.

REFERENCIAS

1. Anguiano Landín, G.: Comunicación personal, 1964.
2. Brattgard, S. O., Edström, J. E., y Hydén, H.: *The productive capacity of the neuron in retrograde reaction*. Exp. cell Res. Suppl. 5: 185-200, 1958.
3. Castillo Nájera, F.: *Contribución al estudio de las parálisis tóxicas. Un envenenamiento colectivo por tullidora*. Memoria del Quinto Congreso Médico Mexicano. (Puebla de Zaragoza, enero 9-16, 1918). México 1920. Tomo 1, págs. 240-244.
4. Clavijero, F. X.: *Historia de la Antigua o Baja California* (Trad.) Imp. del Museo Nacional de Arqueología, Historia y Etnografía. México, 1933. (Cit. por Padrón, 18).
5. Cuiltly, C.: *Breve Estudio sobre el Capulincillo de Querétaro*. Tesis, 1887 (Cit. por Padrón, 18).
6. Del Pozo, E. C.: Comunicación Personal, 1964.
7. Einarson, L.: *A method for progressive selective staining of Nissl and nuclear substance in nerve cells*. Am. J. Path. 8: 295-307, 1932.
8. Einarson, L.: *Notes on the histochemical aspect of the changes of the spinal motor cells in anoxia, vitamin E deficiency and poliomyelitis*. Acta Orthoped. Scand, 19: 55-85, 1949.
9. Einarson, L.: *Nucleic acids as structural constituents of nerve cells*. En I. N. Cummings: *Modern Scientific Aspects of Neurology*, Arnold, London, 1960. Cap. 1, págs. 1-67.
10. Fisher, C. M. y Adams, R. D.: *Diphtheritic polyneuritis. A pathological study*. J. Neuropath. exp. Neurol. 15: 243-268, 1956.
11. Godoy y Alvarez, M.: *El Rhamnus Humboldtianus. Apuntes para su Historia Natural Médica*. Tesis, 1897 (Cit. por Padrón, 18).
12. Gombault, A.: Arch. de Neurol. 1: 11, 1880-81 (Cit. por Greenfield, 14).
13. Greenfield, J. G.: *General pathology of the nerve cell and neuroglia*. En J. G. Greenfield (Ed.): *Neuropathology*, Arnold, London, 1958. Cap. 1, págs. 1-66.
14. Greenfield, J. G.: *Disease of the lower motor and sensory neurones (peripheral neuritis and neuropathy)*. En J. G. Greenfield (Ed.): *Neuropathology*, Arnold, London, 1958. Cap. 12, págs. 583-615.
15. Klüver, H. y Barrera, E.: *A method for the combined staining of cells and fibres in the nervous system*. J. Neuropath. exp. Neurol. 12: 400-403, 1953.
16. Manual of Histologic and Special Staining Techniques. Armed Forces Institute of Pathology, Washington, 1957, pág. 158.
17. Nissl, F.: *Über die Veränderungen der Ganglienzellen am Facialiskern des Kaninchens nach Ausreissung der Nerven*. All. Z. Psychiat. 48: 197-198, 1892. (Cit. por Einarson, 9).
18. Padrón Puyou, F.: *Estudio clínico experimental de la parálisis por karwinskia humboldtiana (tullidora) en niños*. Gaceta Médica de México, 81: 300-311, 1951.
19. Padrón, F. y Velázquez, T.: *Patología experimental y clínica de la parálisis por karwinskia humboldtiana*. Rev. Mex. Pediat. 25: 225-237, 1956.
20. Sosa, S.: *Tullidora o Capulincillo*. El Estudio, 11: 35, 1890 (Cit. por Padrón, 18).
21. Swank, R. L., y Davenport, H. A.: *Chlorate-osmic-formalin method for staining degenerating myelin*. Stain Technol. 10: 87-90, 1935.
22. Winkelmann, R. K. y Schmit, R. W.: *A simple silver method for nerve axoplasm*. Proc. Staff Meet. Mayo Clinic. 32: 217-222, 1957.