

Toxindrome agudo por calabaza (*Cucurbita maxima*) en caninos

Acute toxicity in dogs by *Cucurbita maxima*



<https://eqrcode.co/a/y3uAcJ>

✉ Dumar Alexander Jaramillo Hernández*, ✉ Doris Juliette Tamayo Rojas, ✉ Luz Natalia Pedraza Castillo,
✉ Anita Isabel Roque Rodríguez

¹Escuela de Ciencias Animales, Facultad de Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales, Universidad de los Llanos, Km 12 vía Puerto López, Vereda Barcelona, Villavicencio, Meta, Colombia.

RESUMEN: El objetivo de esta investigación fue aportar al conocimiento teórico-práctico clínico sobre la exposición dietaria aguda de caninos domésticos a la calabaza (*Cucurbita maxima*). En el estudio experimental de toxicidad aguda en caninos expuestos a la materia seca (Ms) del fruto de *C. maxima*, se estudiaron 24 caninos domésticos clínicamente sanos, que se distribuyeron aleatoriamente y de forma uniforme en cuatro grupos experimentales. A cada grupo se le midieron parámetros clínicos neurológicos a través de la escala modificada de coma de Glasgow y paraclínicos (hemograma completo, alanina aminotransferasa, nitrógeno ureico sanguíneo y creatinina) una hora antes del inicio de la exposición (tiempo 0, T0). Posteriormente, a cada animal, en dependencia del grupo experimental, se le administró Ms del fruto *C. maxima* a razón de 500 mg/Kg (grupo A), 1 g/Kg (grupo B), 5 g/Kg (grupo C) vía oral (PO), así como 200 g del preparado cocido de *C. maxima* como dosis total PO (grupo D). Una hora después de la exposición (PE) (Tiempo 1- T1) y 24 horas PE (Tiempo 2 - T2), todos los parámetros paraclínicos mencionados fueron nuevamente medidos; así mismo el examen clínico neurológico fue ejecutado cada hora PE durante 24 horas. La exposición dietaria a la Ms del fruto de *C. maxima* en los caninos no generó diferencia significativa ($p > 0,05$) cuando se compararon los datos clínicos neurológicos y paraclínicos obtenidos en cada grupo experimental del T0 versus T1 y T2. Por consiguiente, este estudio no evidenció indicio de toxicidad aguda clínica o subclínica a las dosis administradas en el modelo experimental, por lo que podemos concluir que no se generan eventos agudos de toxicidad clínica o subclínica en caninos clínicamente sanos expuestos al fruto de la *C. maxima*, en el rango de dosis de 500 mg Ms/Kg a 5 g Ms/Kg PO o 200 g de preparado cocido PO en 24 horas.

Palabras clave: cucurbitacinas, fitotoxicidad, metilxantinas, intoxicación.

ABSTRACT: The objective of this research was to contribute to the clinical theoretical-practical knowledge on the acute dietary exposure of domestic dogs to squash (*Cucurbita maxima*). The experimental study of the acute toxicity in the dogs exposed to the dry matter (DM) of *C. maxima* fruit was developed using 24 clinically healthy domestic dogs, which were randomly and uniformly distributed in 4 experimental groups. Each group had clinical neurological parameters measured by the modified Glasgow Coma Scale and paraclinical parameters (complete blood count, alanine aminotransferase, blood urea nitrogen and creatinine), one hour before starting exposure (time 0, T0). Subsequently, each animal, depending on the experimental group, was administered DM of *C. maxima* fruit at a rate of 500mg/Kg (group A), 1g/Kg (group B), 5g/Kg (group C) orally (PO), as well as the administration of 200 g of the cooked *C. maxima* preparation as total dose PO (group D). One hour after exposure (PE) (Time 1 - T1) and 24 hours PE (Time 2 - T2), all the mentioned paraclinical parameters were measured again; likewise, the neurological clinical examination was performed every PE hour for 24 hours. Dietary exposure to the DM of *C. maxima* fruit in dogs did not generate any significant difference ($p > 0.05$) when comparing the clinical neurological and paraclinical data obtained in each experimental group of T0 versus T1 and T2. Therefore, this study showed no evidence of acute clinical or subclinical toxicity at the doses administered in the experimental model, thus it can be concluded that no acute clinical or subclinical toxicity events were generated in clinically healthy dogs exposed to the fruit of *C. maxima*, in the dose range of 500 mg DM/kg to 5 g DM/kg PO or 200 g of cooked PO preparation in 24 hours.

Key words: cucurbitacins, phytotoxicity, methylxanthines, intoxication.

INTRODUCCIÓN

La ahuyama (como es conocida en Colombia) o zapallo (como es denominada en otros países de América del Sur) o calabaza común (*Cucurbita maxima* Duch) es un miembro de la familia *Cucurbitaceae*, que incluye una amplia diversidad de frutos de plantas como el melón, sandía, pepino, pepinillos, calabacín, entre otras; plantas que están inmersas en los hábitos nutricionales de las personas en países,

tanto del hemisferio occidental como oriental (1,2). Tradicionalmente las calabazas (*Cucurbita maxima*, *Cucurbita pepo*, *Cucurbita moschata*, *Cucurbita ficifolia*, *Cucurbita turbaniformis*, entre otras) son usadas dentro de la preparación de alimentos para el hombre, así como también dentro de acciones de decoración de diversas fiestas (ej. Halloween) (3); situación que permite la oferta de este fruto para los caninos domésticos, principalmente para los que son alimentados con productos de la dieta diaria familiar.

*Autor para la correspondencia: Dumar Alexander Jaramillo Hernández. E-mail: dumar.jaramillo@unillanos.edu.co

Recibido: 18/7/2020

Aceptado: 20/2/2021

El uso de la *C. maxima* y otras calabazas en la dieta de las personas tiene un sustento nutricional importante, al ser su fruto y sus semillas contenidas dentro de la misma fuente de ácidos grasos insaturados, especialmente el ácido palmítico, el ácido esteárico, el ácido oleico y el ácido linoleico (4), como también aminoácidos esenciales (5); también al contener importantes concentraciones de vitamina E (α -tocoferol y γ -tocoferol) y ácidos grasos insaturados (6), así como fitosterol (7). A parte de su calidad nutricional, las calabazas han sido reportadas para el tratamiento en humanos de enfermedades parasitarias internas -trematodos y cestodos- (8), gastropatías (9), hiperplasia de próstata (10,11), enfermedad cardiovascular (12), hipoglicemiante (13), inmunoestimulador (14), antimalárico (*Plasmodium berghei*) (15) y antianémico (16). Específicamente se tiene a la *C. maxima* como un potencial fitofármaco, ejemplo de ellos es el compuesto spinastero aislado de sus flores, que presenta un efecto potencial anticancerígeno (17), antigenotóxico (18) y actividad antimutagénica (19). Recientemente, Okey *et al.* (20) demostraron que el extracto etanólico de sus hojas posee un efecto barredor de radicales libres, estimulando la actividad enzimática antioxidante y preservando la arquitectura hepática en estudios desarrollados en el modelo de hepatotoxicidad por acetaminofen en ratas.

Así mismo, existe evidencia sobre los efectos antiparasitarios presentes en las semillas del fruto de las calabazas, de donde se han aislado compuestos tipo: cucurbitine (genera parálisis del parásito *Turbellaria*), cucurbitacina (Ct) B, Ct L (efecto antigardial), berberine, palmatine y fitosterolina (21-23). Feitosa *et al.* (24) utilizaron el extracto etanólico de semillas de *C. pepo* para el control con éxito de helmintos intestinales en avestruces a 1g/Kg vía oral (PO) durante tres días; por otro lado, Ayaz *et al.* (25) usó el extracto acuoso y etanólico de semillas de *C. maxima* para el control de *Aspiculuris tetraptera* en ratas a dosis de 100 mg/Kg PO durante siete días sin reportar efectos adversos. Existen varios reportes del posible efecto antiparasitario interno de *C. maxima* en diversos modelos experimentales *in vivo*: control parcial de *Raillietina cestocillus* en aves (26), *Vampirolepsis nana* en ratones (27), *Oesophagostomum* sp. en cerdos (28), *Heligmosoides bakeri* en ratones (23) y *Ascaridia galli* en aves (29), entre otros.

Estudios *in vitro* refuerzan la información existente sobre los efectos antihelmínticos existentes en *C. maxima*. Diaz-Obregon *et al.* (30) validaron sus efectos cestodicidas, pues demostraron que, en 23 g de sus semillas (aproximadamente de 73 semillas) en 100 mL de agua destilada, generan efectos deletereos sobre *Diphylidum caninum* provenientes de caninos en el Perú. Recientemente, Babaei *et al.* (31) encontraron que el extracto metanólico de semillas de *C. maxima* posee efectos escolicidas significativos a una concentración de 50 mg/mL. Por otro lado, un estu-

dio experimental, que implica caninos y calabaza (*C. pepo* L.), lo desarrollaron Mahmoud *et al.* (32), y hallaron efectos trematodicidas importantes sobre la infección experimental por *Heterophyes heterophyes*, al usar los extractos acuosos de sus semillas y el fruto de *Areca catechu* administrados en conjunto PO por dos semanas consecutivas en caninos.

En caninos existen tan solo reportes etnofarmacológicos sobre su exposición a semillas de *C. maxima*, principalmente como alternativa fitoterapéutica para el control de parásitos internos. Anecdóticamente, Martín *et al.* (33) comentaron sobre el uso de estas para purgar caninos que acompañaban fenómenos de tras-humancia en Francia, controlando así infecciones por cestodos (coenurosis); Lans *et al.* (34) mencionaron el uso de las semillas de *C. pepo* L para el control de cestodos en caninos en comunidades rurales de Canadá. La literatura internacional adolece de estudios de toxicidad de esta planta sobre los caninos domésticos. En la práctica de toxicología clínico-epidemiológica, el término toxindrome se usa para asociar una serie de signos síntomas que sugieren una intoxicación o una categoría particular de intoxicación (35). Es así, que en la práctica clínica privada existen hipótesis de asociaciones de alteraciones neurológicas (ej. paraparesias del tren posterior con mantenimiento de los reflejos sensitivos superficiales y profundos) en caninos expuestos accidental o voluntariamente al preparado casero de *C. maxima*. El objetivo de esta investigación fue aportar al conocimiento teórico-práctico clínico sobre la exposición dietaria aguda de caninos domésticos a la calabaza (*Cucurbita maxima*), a través del estudio experimental de toxicidad aguda en caninos expuestos a la materia seca del fruto de *C. maxima*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Preparación del material vegetal

La ahuyama (fruto de *Cucurbita maxima*) adquirida en un mercado de alimentos local de la ciudad Villavieja (Meta, Colombia), se identificó en el Herbario de la Universidad de los Llanos. El fruto lavado y pesado se sometió a desecación en un horno de aire recirculante a 60°C por 72 horas (materia seca -Ms- 12% aproximadamente); posteriormente, se procedió a la pulverización del material y se obtuvo un cernido homogéneo que se almacenó en refrigeración (4-8°C) hasta su utilización. También se sometió a cocción en agua destilada, aproximadamente 1500 g de Ms del fruto *Cucurbita maxima*, de los cuales se obtuvo aproximadamente 2000 g en presentación de papilla, asemejando un preparado casero.

Animales experimentales

Se utilizaron 24 caninos, machos, con un rango etario de tres a cinco años de edad y un peso promedio de 15-20 Kg, sin raza definida, aparentemente sanos

Tabla 1. Escala de coma de Glasgow modificada (ECGM) usada en la evaluación neurológica de los caninos expuestos a *C. maxima*. / *Modified Glasgow Coma Scale used in the neurological evaluation of the dogs exposed to C. maxima*

Evaluación clínica	Hallazgo clínico	Puntaje
Actividad motora	Desplazamiento normal, reflejos espinales normales	6
	Hemiparesis, tetraparesis o rigidez por descerebración	5
	Recumbencia, rigidez intermitente extensor	4
	Recumbencia, rigidez constante extensor	3
	Recumbencia, rigidez constante extensor con opistótono	2
	Recumbencia, hipotonía muscular, depresión o ausencia de reflejos espinales	1
Reflejos cerebrales	Reflejo pupilar y reflejo oculocefálico normal	6
	Reflejo pupilar lento y reflejo oculocefálico normal a reducido	5
	Miosis bilateral con reflejo oculocefálico normal a reducido	4
	Pupilas “pinpoint” reflejo oculocefálico reducido a ausente	3
	Midriasis unilateral con reflejo oculocefálico normal a reducido	2
	Midriasis unilateral con reflejo oculocefálico reducido a ausente	1
Nivel de consciencia	Periodos ocasionales de alerta con respuesta a estímulos ambientales	6
	Depresión o delirio, capaz de responder pero podría responder inapropiadamente	5
	Semicomatoso, con respuesta a estímulo visual	4
	Semicomatoso, con respuesta a estímulo auditivo	3
	Semicomatoso, con respuesta solo a estímulo doloroso repetido	2
	Comatoso, insensible a estímulos dolorosos repetidos	1
	ECGM Puntaje	Clasificación clínica
	3 - 8	grave
	9 - 14	reservado
	15 - 18	bueno

clínicamente y paraclínicamente (hemograma completo, Alanina aminotransferasa -ALT-, Nitrógeno ureico sanguíneo -BUN- y creatinina dentro de los rangos para la especie (36)), con historial de desparasitación interna y externa previo (mínimo 30 días antes del experimento) y vacunación. Previo a la ejecución del experimento, los animales se sometieron a un examen semiológico completo, con énfasis en el sistema nervioso; se evaluaron, en su totalidad, la función de estado de consciencia, pares craneales, segmentos medulares, e inervación periférica, acción desarrollada a través del diligenciamiento de la Escala de coma de Glasgow modificada (ECGM) (Tabla 1). Se considera normal al examen clínico, cuando se obtiene un puntaje en la ECGM entre 15 a 18 (37); así como determinación de perfil sanguíneo y química sanguínea convencional (ALT, BUN y Creatinina) en procesos automatizados en los equipos Rayto RT-7600 (Rayto Life and Analytical Sciences, Guangming New District, P.R. China) y SACA-11904CV (MRC Analytica, Berlín, Alemania), respectivamente. Las muestras de sangre (5 mL) se obtuvieron de la vena cefálica y se recolectaron en tubos vacutainer con anticoagulante (EDTA). Los animales fueron alojados en jaulas individuales, en las instalaciones del Centro Clínico Veterinario de la Universidad de los Llanos (Villavicencio, Meta, Colombia) en condiciones ambientales propias de la zona (HR 82%, T. prom. 28°C, 440 msnm), con oferta de agua *ad libitum* y dieta con alimento balanceado comercial distribuido en dos momentos (mañana

na y tarde), respetando las consideraciones nacionales colombianas consagradas en la Ley 1774 de 2016 e internacionales del bienestar animal y buenas prácticas de experimentación animal.

Diseño experimental

Se distribuyeron los caninos al azar en cuatro grupos, cada uno compuesto por seis animales experimentales (grupo A, B C y D). La Ms pulverizada del fruto de *C. máxima* se administró disuelto a 5% en solución de cloruro de sodio a 0,9% (NaCl 0,9%, Baxter, Glenview, Illinois, EUA) vía oral (PO) a través de una cánula oral en una sola dosis, con el objetivo de inducir la intoxicación aguda. Así, al grupo A se le administró 500mg/Kg (aproximadamente 83 g de fruto verde para un canino de 20 Kg de peso vivo, lo cual sería una porción dietaria común para una persona adulta promedio); 1gr/Kg PO al grupo B; y 5g/kg al grupo C (aproximadamente 830 g de fruto verde para un canino de 20 Kg de peso vivo, siendo 10 veces más que una porción dietaria común para una persona adulta promedio). A los animales del grupo D, la Ms fue cocida durante una hora a 80°C en agua destilada semejando una preparación casera; se administró 200 g PO del preparado por canino (equivalente a una porción habitual de preparación casera para una persona adulta común). Los animales se mantuvieron de forma individual en 24 caniles, donde se les suministró alimento (alimento balanceado comercial)

en dos porciones (mañana y tarde) de acuerdo a su peso vivo siguiendo indicaciones de la casa comercial del alimento balanceado y agua *ad-libitum*. Una hora antes de la exposición (preexposición- T0, datos que fueron usados como control para cada grupo, datos testigos) y cada hora durante 23 horas posexposición, se registraron los indicadores clínicos de la ECGM; por otra parte, las muestras biológicas para evaluación paraclínica se tomaron una hora antes de la exposición (preexposición -T0, datos que fueron usados como control para cada grupo, datos testigos), una hora después de la exposición (exposición -T1) y 24 posexposición (T2).

Análisis estadístico

Las respuestas de los grupos experimentales en cada tiempo de medición, a la evaluación semiológica neuromuscular (ECGM) y de las pruebas paraclínicas (perfil sanguíneo y química sanguínea), se presentan en su respectiva media y desviación estándar. A cada resultado obtenido, agrupado por tiempos (T0, T1 y T2 para pruebas paraclínicas; y T0 y cada hora para la evaluación clínica nerviosa), se les aplicó la prueba de homocedasticidad de Barttle ($p < 0,05$); posteriormente, se realizó la prueba de distribución T-Student asumiendo un $p < 0,05$ para comparar el T0 de cada medición en cada grupo con los subsecuentes tiempos posexposición dentro del mismo grupo. Estas actividades se ejecutaron utilizando el programa Open Stat 4® Versión 9.0.

RESULTADOS

Respecto a la evaluación clínica de los caninos experimentales, específicamente en los datos obtenidos en la ECGM (ej. actividad motora, reflejos cerebrales y nivel de consciencia) de cada uno de los grupos en los diferentes tiempos evaluados, es decir T0 (una hora antes de suministrar *C. maxima*) y tiempos posexposición (cada hora después de administrar *C. maxima* durante 23 horas después del desafío con *C. maxima*), se presentaron puntajes ubicados dentro de la clasificación clínica normal-bueno al interpretar la ECGM (37). En los grupos A, B, C y D en el T0 el puntaje ECGM obtenido fue de 16 ± 1.23 , 16.2 ± 0.4 , 17 ± 0.2 y 16 ± 0.8 , respectivamente. A lo largo de las diferentes exploraciones clínicas posexposición en cada grupo experimental, este puntaje ECGM se mantuvo sin variaciones significativas (ej. Cuatro horas posexposición: 16 ± 1.21 , 16.2 ± 0.6 , 17 ± 0.3 y 16 ± 0.7 . Ocho horas posexposición: 16 ± 1.23 , 16.2 ± 0.5 , 17 ± 0.4 y 16 ± 0.8 . 12 horas posexposición: 16 ± 1.23 , 16.2 ± 0.4 , 17 ± 0.2 y 16 ± 0.8 . 24 horas posexposición: 16 ± 1.22 , 16.2 ± 0.1 , 17 ± 0.2 y 16 ± 0.6 ; para los grupos A, B, C y D, respectivamente). Al comparar estadísticamente los puntajes ECGM dentro de cada grupo experimental, respecto a su T0 versus los diferentes

tiempos posexposición, no hubo diferencia significativa (T-Student, $p < 0,05$). Fue evidente, a la exploración clínica ordenada completa y sistemática, la inexistencia de alteraciones fisiológicas en el SNC y periférico de los animales experimentales expuestos a diferentes dosis de Ms del fruto de *C. maxima* o su preparado cóccido.

Por otra parte, los datos obtenidos del hemograma completo (Eritrocitos $10^6/\text{mm}^3$, Hemoglobina gr/dL , Hematocrito %, Plaquetas $10^3/\text{mm}^3$, Neutrófilos células/ mm^3 , Linfocitos células/ mm^3 , Eosinófilos células/ mm^3 , Monocitos células/ mm^3) y química sanguínea (BUN mg/dL , Creatinina mg/dL , ALT U/L) siempre estuvieron dentro de los parámetros para la especie (36) en los diferentes momentos de la toma de muestra. En la [Tabla 2](#) se presentan los resultados del hemograma y en la [Tabla 3](#) los datos de la química sanguínea (valores descritos en medias y desviación estándar de los datos).

DISCUSIÓN

Desde 1935 existen indicios de probable toxicidad nerviosa asociada al consumo de plantas del género *Cucurbita* en animales, donde Steyn (38) evaluó la parálisis musculoesquelética en ovejas de establo que consumieron accidentalmente grandes cantidades de *Cucurbita pepo* L., sin encontrar evidencias sustanciales en su asociación. En 1982, el Departamento de salud de Queensland (Australia) reportó 20 casos clínicos en personas que consumieron *C. pepo* L. La sintomatología incluía cólicos, vómito, diarrea y cefalea; lo asociaron al efecto purgante de ciertos metabolitos secundarios de naturaleza triterpénica tetracíclica, cucurbitacinas (Ct), presentes en las frutas de la planta consumida (39).

En ese orden de ideas, Stoewsand *et al.* (40) administraron 1 % y 20 % de la dieta diaria por 10 semanas en materia seca de la fruta de *Cucurbita pepo* y *C. texana* en ratones; generaron mortalidad de todos los animales expuestos al 20 % de la dieta en *C. texana* en los primeros 6-10 días del experimento y 40 % de mortalidad de los animales sometidos al 1 % de la dieta con la misma fruta en las 10 semanas de duración del experimento. Los animales que sobrevivieron presentaron diarrea, pérdida de peso y alteraciones en el hemograma (anemia hipocrómica). Por otra parte, los animales expuestos a *C. pepo* no presentaron ninguna alteración clínica o paraclínica; se evidenció por HPLC que *C. texana* tenía una alta concentración en materia verde de Ct E glicosiladas (3,56 mg/g) y Ct I (1,39 mg/g); sin embargo, *C. pepo* no presentaba niveles detectables de Ct. En Estados Unidos, Rymal *et al.* (41) reportaron eventos de toxicidad por alimentos y prácticas etnofarmacológicas, desde 1981 a 1982, en personas que consumieron o usaron frutas de *Cucurbita* spp. ricas en Ct asociando igualmente altas concentraciones de Ct E (3,1 mg/g); en todos los reportes mencionados, se vinculó el sabor amargo de las frutas al alto contenido de Ct.

Tabla 2. Perfil sanguíneo de caninos expuestos al fruto de *Cucurbita maxima*. / Blood profile of the dogs exposed of *Cucurbita maxima* fruit

	Grupo A**	Grupo B**	Grupo C**	Grupo D**	
Preexposición (T0)*	LEUCOCITOS	11,06 ± 1,41	11,02 ± 2,88	11,18 ± 3,25	12,45 ± 3,00
	ERITROCITOS	6,42 ± 0,73	6,70 ± 0,56	6,13 ± 1,09	6,82 ± 1,16
	HEMATOCRITO	40,12 ± 0,76	41,83 ± 2,64	40,00 ± 5,33	42,33 ± 4,84
	PLAQUETAS	318,6 ± 74,58	292,00 ± 65,47	308,50 ± 131,28	261,00 ± 70,37
	NEUTROFILOS	7,456 ± 1,62	7,49 ± 1,93	8,50 ± 1,39	7,91 ± 1,66
	LINFOCITOS	2,82 ± 1,30	3,94 ± 2,31	3,25 ± 1,24	3,55 ± 1,67
	EOSINOFILOS	0,651 ± 0,44	0,79 ± 1,01	0,44 ± 0,40	0,24 ± 0,16
	MONOCITOS	0,126 ± 0,04	0,18 ± 0,10	0,11 ± 0,09	0,08 ± 0,03
Exposición (T1)*	LEUCOCITOS	13,3 ± 4,07	10,77 ± 1,94	11,28 ± 2,86	12,62 ± 2,68
	ERITROCITOS	6,88 ± 0,68	7,40 ± 0,45	6,80 ± 0,86	7,38 ± 1,04
	HEMATOCRITO	40,72 ± 3,79	40,83 ± 3,31	40,33 ± 2,88	43,50 ± 4,59
	PLAQUETAS	322 ± 58,07	330,83 ± 81,27	259,17 ± 72,69	262,50 ± 69,88
	NEUTROFILOS	8,91 ± 1,96	7,66 ± 1,55	7,90 ± 1,92	8,42 ± 1,75
	LINFOCITOS	4,044 ± 3,16	2,77 ± 0,61	2,98 ± 0,97	5,37 ± 2,94
	EOSINOFILOS	0,442 ± 0,51	0,33 ± 0,23	0,38 ± 0,30	0,28 ± 0,06
	MONOCITOS	0,09 ± 0,06	0,16 ± 0,15	0,104 ± 0,06	0,07 ± 0,02
Posexposición (T2)*	LEUCOCITOS	13,42 ± 4,14	12,28 ± 0,57	11,41 ± 1,29	12,87 ± 2,46
	ERITROCITOS	6,14 ± 0,40	6,97 ± 0,56	5,25 ± 1,98	7,20 ± 1,01
	HEMATOCRITO	40,6 ± 2,97	41,17 ± 1,83	37,63 ± 5,08	43,33 ± 4,55
	PLAQUETAS	342 ± 73,29	371,67 ± 111,97	326,67 ± 57,85	266,50 ± 70,12
	NEUTROFILOS	8,747 ± 2,06	8,10 ± 1,17	7,55 ± 2,08	8,30 ± 1,58
	LINFOCITOS	3,725 ± 2,98	4,47 ± 2,24	4,15 ± 2,15	3,51 ± 1,27
	EOSINOFILOS	0,546 ± 0,51	0,72 ± 0,22	0,71 ± 0,25	0,30 ± 0,10
	MONOCITOS	0,101 ± 0,07	0,14 ± 0,08	0,09 ± 0,07	0,06 ± 0,03

Leyenda: Eritrocitos 10⁶/mm³, Hemoglobina gr/dL, Hematocrito %, Plaquetas 10³/mm³, Neutrófilos células/mm³, Linfocitos células/mm³, Eosinófilos células/mm³, Monocitos células/mm³. *Datos presentados en media y desviación estándar (±) de cada grupo experimental conformado por 6 caninos. **Prueba de distribución T-Student ($p < 0,05$), sin diferencias significativas al comparar dentro de cada grupo los datos obtenidos en el T0 versus T1 y T2

Tabla 3. Química sanguínea de caninos expuestos al fruto de *Cucurbita maxima*. / Blood chemistry of the dogs exposed of *Cucurbita maxima* fruit.

NIVEL SERICO	GRUPO A**	GRUPO B**	GRUPO C**	GRUPO D**	
Preexposición (T0)*	ALT	39,3 ± 12,0	33,9 ± 3,6	32,7 ± 9,1	14,08 ± 6,5
	BUN	17,3 ± 7,9	13,6 ± 3,8	22,9 ± 6,3	17,25 ± 5,2
	CREATININA	0,8 ± 0,2	0,9 ± 0,3	0,9 ± 0,3	0,60 ± 0,1
Exposición (T1)*	ALT	38,4 ± 8,3	35,5 ± 4,5	32,0 ± 6,6	20,08 ± 6,8
	BUN	17,5 ± 7,2	14,2 ± 4,2	21,7 ± 6,4	18,15 ± 5,1
	CREATININA	0,6 ± 0,1	0,9 ± 0,3	0,8 ± 0,3	0,81 ± 0,1
Posexposición (T2)*	ALT	40,1 ± 9,1	38,5 ± 2,1	31,0 ± 9,1	23,28 ± 5,7
	BUN	15,6 ± 7,8	15,8 ± 4,5	30,6 ± 17,5	16,50 ± 4,8
	CREATININA	0,6 ± 0,1	1,0 ± 0,3	0,8 ± 0,3	0,96 ± 0,1

Leyenda: Creatinina mg/dL, ALT: Alanina aminotransferasa (U/L), BUN: Nitrógeno ureico sanguíneo (mg/dL). *Datos presentados en media y desviación estándar (±) de cada grupo experimental conformado por 6 caninos. **Prueba de distribución T-Student ($p < 0,05$), sin diferencias significativas al comparar dentro de cada grupo los datos obtenidos en el T0 versus T1 y T2.

En el presente estudio fue imposible la inducción del toxindrome agudo por exposición al fruto de *C. maxima* en caninos en diferentes dosis, siguiendo parámetros de las condiciones de oferta del fruto en condiciones de hogares y de caninos domésticos que consumen preparados caseros de la planta. Se obtuvieron resultados similares a los reportados en modelos de toxicidad agua y subaguda en murinos y porcinos, donde se usaron semillas de la misma planta (presentes en el fruto y asociadas a prácticas etnofarmacológicas). Queiroz-Neto *et al.* (42) reportaron ausencia de toxicidad aguda (única dosis PO) y subaguda (dosificación PO por 30 días consecutivos) en el modelo murino (1 mL/100 g peso vivo -PV-) y porcino (10 mL preparado/Kg PV) con extractos acuosos de semillas de *C. máxima* (10 g de semilla en 100 mL de agua), sin encontrar evidencia de signos clínicos y/o paraclínicos de alteraciones por la exposición aguda o subaguda a este preparado en los animales usados en el experimento. Los estudios efectuados por Cruz *et al.* (43), donde administraron diversas dosis del extracto etanólico de semillas de *C. maxima*, sin encontrar indicios tóxicos en el modelo murino, reportaron que hasta 5000 mg/Kg PO en el estudio agudo de toxicidad (única dosis) y 1000 mg/Kg PO en subagudos (dosificación por 30 días consecutivos) son seguros en estos animales.

Tanto en la presente investigación como en las mencionadas con anterioridad, se usan diversas partes de la planta *C. maxima* en múltiples modelos animales sin encontrar efectos tóxicos clínicos o paraclínicos significativos, aun cuando se han reportado dosis tóxicas letales para un grupo de los principales constituyentes de metabolitos secundarios de las *Cucurbitaceas*, las Ct, las cuales se han organizado en 12 categorías de compuestos de naturaleza triterpénica altamente oxigenados presentes en varias familias de plantas, y en las frutas y raíces en concentraciones de 0,1-0,3 % (44); de las cuales las Ct A (solo aislada de especies de *Cucumis*), Ct B y E (α -elaterin) son las más representativas desde la perspectiva toxicológica (45) y sus efectos pueden estar asociados a la disrupción de la actina y vimentina, proteínas componentes del citoesqueleto (46) que, entre otras funciones celulares, están implícitos en la comunicación celular, ej. sinapsis neuromoduladoras y neuroefectoras (47,48).

Estas Ct expuestas tienen efectos importantes sobre el sistema quimioatrayente de los insectos; homologan las Kairomonas, hormonas esteroidales sexuales de los mismos, ejerciendo un efecto antagónico sobre estas (45). Estudios dirigidos a comprobar el efecto insecticida de las Ct han encontrado efectos paralizantes sobre el sistema locomotor de especies de *Diabrotica* (*Chrysomelidae*), principal plaga de coleópteros del maíz en América del Norte y regiones de Europa (49).

En nuestro estudio expusimos a caninos usando diversas dosis de Ms del fruto de *C. maxima* PO, como también a 200 g dosis total del preparado co-

cido de Ms asociando un proceso culinario básico familiar donde, de forma hipotética, las temperaturas altas (>80°C) asociadas a la cocción clásica familiar podrían estar influyendo la cinética de disponibilidad o conformación estructural de las Ct presentes en el fruto de *C. maxima*, tal como se ha evidenciado con otros compuestos de naturaleza triterpénica (50,51). Extrapolando esas condiciones a lo reportado entorno a las Ct y su concentración en frutos de plantas 0,1-0,3% (42), hipotéticamente sí existirán en esas concentraciones las Ct en el material vegetal utilizado en este experimento teóricamente se hubieran expuesto a los caninos dosificados 5 g Ms *C. maxima*/Kg PV a 0,83 a 2,49 g de Ct PO, aproximadamente dosis de 41.5 a 124.5 mg Ct/Kg PV PO para un canino de 20 Kg PV, dosis tóxicas superiores a las reportadas por Lemen *et al.* (52) donde la dosis letal 50 (DL50) para las Ct en ratones en el modelo de toxicidad aguda fue de 5-650 mg/kg, y otros tantos diversos estudios que han encontrado LD50 para varias Ct así LD50 intraperitoneal (IP) en ratonas reportada para la Ct A es de 1,2mg/kg y en ratas hembras de 2,0 mg/kg; para la Ct B en ratones la LD50 es de 1,0 mg/kg IP (49). Así mismo, la Ct E tiene una LD50 de 2,0 mg/kg IP en ratones (41); por otro lado, la DL50 de Ct I es de 5mg/Kg PO (52).

Diversos reportes anecdóticos de profesionales en Medicina Veterinaria que ejercen su práctica clínica privada en animales de compañía de la ciudad de Villavicencio (Meta, Colombia), mencionan (datos sin publicar) un cuadro de alteración nerviosa con progresión menor a 24 horas en caninos expuestos PO a preparados caseros de calabaza (Figura 1); pacientes que presentan lesiones neurológicas evidentes en miembros pélvicos, que incluyen pérdida de la propiocepción bilateral, reflejo extensor postural ausente, parataxia, paraparesia ambulatoria, prueba de salto y hemimarcha alteradas, los reflejos de los nervios espinales (patelar, tibial craneal, gastronemio y ciático) en algunos casos, según estos reportes anecdóticos, pueden llegar a presentar hiperreflexia en dependencia del grado de toxicidad aguda adquirido. Además, estos reportes mencionan que, a pesar de la pérdida de movilidad de los miembros pélvicos, la sensibilidad superficial y profunda se encuentra presente. En estos pacientes también podría existir pérdida del reflejo perineal, el cual evalúa el nervio pudendo que se origina de las vértebras sacras 1 a 3 (S1-S3); por lo tanto, se puede presentar una alteración en la función normal del nervio pudendo, que podría conllevar a retenciones urinaria y fecal. Los profesionales en Medicina Veterinaria que atienden estos caninos con diagnóstico presuntivo de toxindrome agudo por calabaza, exponen que esta signología es común en los pacientes, en los cuales puede presentarse anuria y vejiga pletórica al examen ultrasonográfico; dentro del plan terapéutico paliativo, se recomienda realizar un sondaje vesical de manera urgente para evitar lesiones vesicales, reflujo urinario uretral y una consecuente enfermedad renal aguda.



Figura 1. Paraparesia de miembros pélvicos en canino por posible exposición al preparado casero de *C. maxima*. / Pelvic limb paraparesis in canine due to possible exposure to the homemade preparation of *C. maxima*.

Lo reportado anecdóticamente por los profesionales podría tener una explicación toxicodinámica hipotética a través de la presencia de cucurbitaglicósicos -Ctg- (Ct con una unidad inusual de purina en su estructura química) en ciertas calabazas. Da-Cheng *et al.* (53) aislaron dos Ctg: Ctg A y Ctg B, de la fruta de *Cucurbita pepo cv dayangua* con una homología estructural química similar a la adenosina/adenina; estos Ctg mostraron efectos citotóxicos sobre células HeLa de la línea de carcinoma epitelial del humano con una concentración inhibitoria de 50%(IC50) de 17,2 y 28.4 µg/mL, respectivamente. La homología de los Ctg con la adenosina, producida y liberada en el cerebro, ejerce una acción moduladora inhibitoria de la transmisión sináptica (54) que podría propiciar la interacción de estos con receptores de Adenosina A₁ y A_{2A} (A₁R y A_{2A}R, respectivamente), los cuales actúan principalmente como receptores presinápticos neuromoduladores en el sistema nervioso central (SNC), coordinan la liberación de neurotransmisores (48) y son abundantes en el núcleo estriado que participa de manera importante en el control de la actividad motora general (55). Los compuestos agonistas de A₁R generan la disminución de la secreción de acetilcolina *in vitro*, mientras que la activación de los A_{2A}R aumenta la liberación de acetilcolina, tanto *in vitro* (56) como *in vivo* (57). Daly *et al.* (58) indicaron que la activación sobre medida (efecto agonista fuerte) de los A₁R y A_{2A}R produce efectos inhibidores de la locomoción; por su parte, Doka *et al.* (59) comprobaron los efectos excitatorios sobre el SNC del extracto de éter de petróleo de las semillas de *C. maxima* en ratones (dosis de 400 mg/Kg PO) y los compararon en magnitud a la cafeína como derivado de las metilxantinas, en este mismo estudio se reportó la DL50 del extracto en mención en 4000mg/Kg PO. Otros estudios concuerdan que en el modelo murino la cafeína posee efectos estimuladores en la locomoción y que estos son debi-

do al bloqueo de los A_{2A}R, ya que este efecto de la cafeína puede ser mimetizado por fármacos antagonistas selectivos de los A_{2A}R, pero no por los antagonistas A₁R (60,61). Esta hipótesis de interacción entre Ctg y A₁R - A_{2A}R podría explicar los hallazgos de Lahon *et al.* (26), quienes reportaron el efecto inotrópico positivo *ex situ* del extracto crudo de semillas de *C. maxima* sobre el corazón de rana; por su parte, en caninos, un ligero aumento transitorio de la presión arterial media que no dependía de la dosis y en el electrocardiograma elevación del complejo QRS y disminución de la frecuencia cardíaca. Dado que los efectos fisiológicos de la adenosina como neuromodulador mediados a través del A₁R incluyen la vasoconstricción renal, bloqueo de la conducción cardíaca, broncoconstricción e inhibición de la liberación de neurotransmisores en muchas sinapsis centrales y periféricas (62).

En ese sentido, existen varias hipótesis para explicar la posible asociación entre el consumo de ciertos frutos de calabaza y el cuadro clínico agudo nervioso en los caninos, así como para explicar la imposibilidad de desenvolver el cuadro agudo tóxico en los caninos dentro de este experimento: 1) algunas variedades de *Cucurbita* sp. mutan acumulando más metabolitos secundarios (63), entre estos los posibles Ctg predisponiendo a los caninos expuesto a los efectos de estimulación de los A₁R - A_{2A}R; 2) fenómenos de idiosincrasia que permiten mayores absorción y distribución al SNC de los Ctg o disminución en la expresión de proteínas de membrana, que regulan la concentración tisular de los Ctg, o su propio proceso toxicocinético en general, como ya se ha evidenciado para otros eventos tóxicos en caninos (64); 3) alteraciones, debido a patologías subclínicas previas de las vías de metabolización, depuración y excreción de los Ctg predisponiendo a su bioacumulación y efectos tóxicos sobre el SNC, siendo un proceso de reflejo a las alteraciones clásicas que predisponen a eventos de toxicidad por xenobióticos (65). Es importante definir que el sabor amargo de algunos frutos de calabazas podría ser un indicador de una alta concentración de Ct (44,45) y así mismo los caninos con signología del toxidrome por consumo de este fruto un biosensor para revisar ciertos cuadros de discrasias alimentarias en el núcleo familiar.

Por consiguiente, en el presente estudio se considera que el uso de derivados de las metilxantinas (DMx) dentro del tratamiento farmacológico a instaurar en los caninos, donde se sospeche de la presentación del toxidrome de exposición a calabazas, podría ser beneficioso para revertir los efectos deletéreos sobre el SNC. Los DMx (ej. pentoxifilina y aminofilina) son antagonistas de los receptores de adenosina; las acciones farmacológicas de estas sustancias incluyen: estimulación del SNC, diuresis, estimulación cardíaca, relajación del músculo liso (bronquial). Entre sus mecanismos de acción se han descrito una inhibición de

la actividad de las fosfodiesterasas con el correspondiente aumento de los niveles intracelulares de AMP cíclico (AMPC). El segundo mecanismo descrito es el antagonismo competitivo de la adenosina en su A₁R (62,66). Diversas investigaciones han demostrado efectos importantes de estos fármacos en patologías sistémicas y locales, como la reducción de la permeabilidad endotelial inducida por citocinas inflamatorias a través de aumento en el AMPC intracelular y/o inhibición del factor de necrosis tumoral (66-68). También evitar el desequilibrio ácido-base en ratas después de haberles practicado un procedimiento quirúrgico (69), aminorar la pérdida de proteínas del endotelio vascular y el edema pulmonar (70) y prevenir la hipoxia ventilatoria (71); además de ejercer una acción cardioprotectora en pacientes con bypass en cirugía de reemplazo valvular, al generar menor actividad mieloperoxidasa y recuento de neutrofilos luego de la reperfusión (72). Es importante la revisión plasmática de las concentraciones de los DMx al momento de su infusión debido a sus efectos proconvulsivantes atribuidos a la inhibición de los A₁R y una disminución plasmática de piridoxal 5'fosfato, que influiría en la síntesis de GABA desencadenando las convulsiones (73).

CONCLUSIONES

La administración de Ms del fruto *C. maxima* a 500 mg/kg, 1 g/kg, 5 g/kg PO, así como la administración de 200 g del preparado cocido de *C. maxima* como dosis total PO en los caninos utilizados en el presente experimento, no generó algún indicio de toxicidad aguda clínica o subclínica, a pesar de la variedad de reportes de eventos tóxicos en personas expuestas a frutos o semillas de plantas del género *Cucurbita* y su asociación a altas concentraciones de Ct.

REFERENCIAS

1. FAO Plant Production and Protection Series No.26. NEGLECTED CROPS 1492 from a different perspective. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Roma. 1994; 63-68. Consultado 09/13/2019 en <http://www.fao.org/3/a-t0646e.pdf>
2. Lestari B, Meiyanto E. A review: The emerging nutraceutical potential of pumpkin seeds. Indones. J Cancer Chemoprevent. 2018;9(2):92-101.
3. Srbinoska M, Hrabovski N, Rafajlovska V, Sinadinović-Fišer S. Characterization of the seed and seed extracts of the pumpkins *Cucurbita maxima* D. and *Cucurbita pepo* L. from Macedonia. Maced J Chem Chem En. 2012;31(1):65-78.
4. Stevenson D, Eller F, Wang L, Jane J, Wang T, Inglett G. Oil and Tocopherol content and composition of pumpkin seed oil in 12 Cultivars. J. Agric. Food Chem. 2007; 55(10): 4005-4013.
5. Bates D, Robinson R, Jeffrey C. Biological Properties and Utilization of the *Cucurbitaceae*. Cornell University Press: Cornell. 1983;356-361.
6. Rezig L, Chouaibi M, Msaada K, Hamdi S. Chemical composition and profile characterisation of pumpkin (*Cucurbita maxima*) seed oil. Industrial Crops and Products. 2012;37(1):82-87.
7. Montesano D, Blasi F, Simonetti S, Santini A, Cossignani L. Chemical and Nutritional Characterization of Seed Oil from *Cucurbita maxima* L. (var. Berrettina) Pumpkin. Foods. 2018; 7(3):30.
8. Srivastava M, Singh S. Anthelmintic activity of *Cucurbita maxima* (kaddu) seeds. Indian J Med Res. 1967;55(6): 629-632.
9. Vanaclocha B, Canigüeral S. Fitoterapia, Vademécum de Prescripción, 4 ed., Barcelona: Masson. 2003;153-154.
10. Dreikorn K, Schonhofer P. Status of phytotherapeutic drugs in treatment of benign prostatic hyperplasia. Der Urologe. Ausg. A. 1995;34(2):119-129.
11. Medjakovic S, Hobiger S, Ardjomand-Woelkart K, Bucar F, Jungbauer A. Pumpkin seed extract: Cell growth inhibition of hyperplastic and cancer cells, independent of steroid hormone receptors. Fitoterapia. 2016;110: 150-156.
12. Gossell-Williams M, Lyttle K, Clarke T, Gardner M, Simon O. Supplementation with pumpkin seed oil improves plasma lipid profile and cardiovascular outcomes of female nonovariectomized and ovariectomized Sprague-Dawley rats. Phytother. Res. 2008;22(7):873-877.
13. Caili F, Huan S, Quanhong L. A Review on pharmacological activities and utilization technologies of pumpkin. Plant Foods Hum Nutr. 2006;61(2):73-80.
14. Winkler C, Wirleitner B, Schroecksnadel K, Schennach H, Fuchs D. Extracts of pumpkin (*Cucurbita pepo* L.) seeds suppress stimulated peripheral blood mononuclear cells *in vitro*. Am J Immunol. 2005;1(1):6-11.
15. Amorim C, Marques A, Cordeiro R. Screening of the antimalarial activity of plants of the *Cucurbitaceae* family. Mem Inst Oswaldo Cruz. 1991;86(S2):177-180.
16. Yongabi K, Fon E, Lukong H, Chia P. A Preliminary assessment of *Cucurbita Maxima* leaves from Cameroon on haematological parameters in albino rats. J Mol Pharm Org Process Res. 2014;2(3):117
17. Villaseñor I, Lemon P, Palileo A, Bremner J. Antigenotoxic spinasterol from *C. maxima* flowers. Mutat. Res. Environ. Mutagen. 1996;360(2):89-93.
18. Yasir M, Sultana B, Nigam P, Owusu-Apenten R. Antioxidant and genoprotective activity of selected *Cucurbitaceae* seed extracts and LC-ESIMS/MS identification of phenolic components. Food Chem. 2016;199:307-313.

19. Villaseñor I, Domingo A. Anticarcinogenicity potential of spinasterol isolated from squash flowers. *Teratog Carcinog Mutagen*. 2000;20(3):99-105.
20. Enemali M, Bamidele T, Ubana M. Protective effect of ethanolic extract of *Cucurbita maxima* (PUMPKIN) leaf on acetaminophen-induced acute liver toxicity. *J Pharmacognosy Phytother*. 2018;10(8):142-148.
21. Mazzotti L, Criollos A, Diaz-Munoz A. Treatment of taeniasis with pumpkin seeds: simplified technic for the preparation of an aqueous extract. *Rev Inst Salubr Enferm Trop*. 1955;15(4):213-216.
22. Gonzales A, Bravo O, Garcia M, de la Santos R., del Tomas M, Pharmacological (anthelmintic) study of *Cucurbita maxima* seeds and their active principle, cucurbitin. *Ann RealAcad Pharm*. 1974;40:475-486.
23. Grzybek M, Kukula-Koch W, Strachecka A, Jaworska A, Phiri A, Paleolog J, Tomczuk K. Evaluation of anthelmintic activity and composition of pumpkin (*Cucurbita pepo* L.) seed extracts-*in vitro* and *in vivo* studies. *Int J Mol Sci*. 2016;17(9):1456.
24. Feitosa T, Vilela V, Athayde A, Braga F, Dantas E, Vieira V, de Melo L. Anthelmintic efficacy of pumpkin seed (*Cucurbita pepo* Linnaeus, 1753) on ostrich gastrointestinal nematodes in a semiarid region of Paraíba State, Brazil. *Trop Anim. Health Prod*. 2013;45(1):123-127.
25. Ayaz E, Gökkbulut C, Coşkun H, Türker A, Özsoy S, Ceylan K. Evaluation of the anthelmintic activity of pumpkin seeds (*Cucurbita maxima*) in mice naturally infected with *Aspiculuris tetraptera*. *J. Pharmacogenet. Phytother*. 2015;7(9):189-193.
26. Lahon L, Khanikor H, Ahmad N, Gogoi A. Preliminary and pharmacological and anticestodal screening of *Curcurbita maxima*. *Indian J Pharmacol*. 1978;10(4):315-317.
27. Amorim A, Borba H. Ação anti-helmíntica de plantas VII - Triagem de 14 extratos brutos sobre *Vampirolepsis nana* em camundongos. *Rev Bras Farm*. 1993;74:2-3.
28. Magi E, Talvik H, Jarvis T. *In vivo* studies of the effect of medicinal herbs on the pig nodular worm (*Oesophagostomum* spp.). *Helminthologia*. 2005;42(2):67-69.
29. Abdel A. In vitro and in vivo anthelmintic activity of pumpkin seeds and pomegranate peels extracts against *Ascaridia galli*. BENI-SEUF UNIV. *J Appl Sci*. 2018;7(2):231-234.
30. Diaz-Obregon D, Lloja-Lozano L, Carbajal-Zuniga V. Preclinical studies of *Cucurbita maxima* (pumpkin seeds) a traditional intestinal antiparasitic in rural urban areas. *Vet Gastroenterol Perú* 2004;24(4):323-327.
31. Babaei A, Jafari A, Asadpour M, Shamsi M. *Cucurbita maxima* (pumpkin) seeds: scolicedal activity and preventive efficacy of its extract on experimental hydatidosis in mice. *Iran J Basic Med. Sci*. 2018;5(1):22-28.
32. Mahmoud L, Basiouny S, Dawoud H. Treatment of experimental heterophyiasis with two plant extracts, areca nut and pumpkin seed. *J Egypt Soc Parasitol*. 2002;32(2):501-516.
33. Martin M, Mathias E, McCorkle C. *Ethnoveterinary Medicine: An annotated bibliography of community animal healthcare*. ITDG publishing, London. 2001;15-21.
34. Lans C, Turner N, Khan T, Brauer G. *Ethnoveterinary medicines used to treat endoparasites and stomach problems in pigs and pets in British Columbia, Canada*. *Vet Parasitol*. 2007;148(3-4):325-340.
35. Bregstein J, Ganis C, Sonnett M. Chapter 5 - Emergency Medicine. In: *Pediatric Secrets*, Ed. Mosby, Fifth Edition. 2011;154-196.
36. Meyer D, Harvey J. *El laboratorio clínico en Medicina Veterinaria. Interpretación y diagnóstico*. Ed. Interamericana, 2nd ed. Buenos Aires, Argentina. 2000;38-78.
37. Shores A. Craniocerebral trauma. In: Kirk RW, ed. *Current Veterinary Therapy X*. Philadelphia, PA: WB Saunders. 1983;847-885.
38. Steyn D. The toxicity of pumpkin seed (*Cucurbita pepo* L.). *Onderstepoort J Vet Sci Anim Ind*. 1935;5(2):441-443.
39. Ferguson J, Fischer D, Metcalf R. A report of cucurbitacin poisonings in humans. *Cucurbit Genetics Coop Report*. 1983;36.
40. Stoewsand G, Jaworski A, Shannon S, Robinson R. Toxicologic response in mice fed *Cucurbita* fruit. *J Food Prot*. 1985;48(1):50-51.
41. Rymal K, Chambliss O, Bond M, Smith D. Squash containing toxic cucurbitacin compounds occurring in California and Alabama. *J Food Prot*. 1984;47(4):270-271.
42. Queiroz-Neto A, Mataqueiro M, Santana A, Alessi A. Toxicologic evaluation of acute and subacute oral administration of *Cucurbitamaxima* seed extracts to rats and swine. *J Ethnopharmacol*. 1994;43(1):45-51.
43. Cruz R, Meurer C, Silva E, Schaefer C, Santos A, Bella-Cruz A, Cechinel-Filho V. Toxicity evaluation of *Cucurbita maxima* seed extract in mice. *Pharm Biol*. 2006; 44(4): 301-303.
44. Chen J, Chiu M, Nie R, Cordell G, Qiu S. Cucurbitacins and cucurbitane glycosides: structures and biological activities. *Nat Prod Rep*. 2005;22(3):386-399.
45. Ujváry I. Pest Control Agents from Natural Products. In: *Hayes' Handbook of Pesticide Toxicology*. Elsevier. 2010;172-173.
46. Duncan K, Duncan M, Alley M. Cucurbitacin E induced disruption of the actin and vimentin cytoskeleton in prostate carcinoma cells. *Biochem Pharmabitacin*. 1996;52(10):1553-1560.

47. Watanabe K, West W. Calmodulin, activated cyclic nucleotide phosphodiesterase, microtubules, and vinca alkaloids. *Fedn Proc.* 1982;41(7):2292-2299.
48. Zuccolilli G. Capítulo 7. Bases fisiológicas de la neurotransmisión, Farmacología del Sistema Nervioso Central. In: Botana LM, Landoni MF, Martín-Jiménez T. *Farmacología y terapéutica Veterinaria*. 1ª Ed. Mc Graw Hill- Interamericana. Madrid, España. 2002;89-106.
49. Metcalf R. Chemical ecology of Diabroticites. In: "Novel Aspects of the Biology of Chrysomelidae" Jolivet P, Cox M, Petitpierre E. eds. Kluwer Academic, Dordrecht. 1994;153-169.
50. da Silva Júnior W, de Oliveira Pinheiro J, de França Almeida C, Rüdiger A, Barbosa E, Lima E, de Lima Á. Thermal behavior and thermal degradation kinetic parameters of triterpene α , β amyirin. *J Therm Anal Calorim.* 2017;27(2):1757-1766.
51. Rios J, Recio M, Mañez S, Giner R. Natural triterpenoids as anti-inflammatory agents. *Stud Nat Prod Chem.* 2000;22(part C):93-143.
52. LeMen J, Buffard J, Provost R, Tiberghien P, Forgacs E, LaGrange O, Arousseau M. Relations entre la structure de quelques cucurbitacines leur toxicite et leuractivite laxative. *Chem Therapeut.* 1969;6:459-465.
53. Da-Cheng W, Hua X, Dan L, Hui-yuan G, Hui C, Li-Jun W, Xu-Ming D. Purine-containing cucurbitane triterpenoids from *Cucurbita pepo* cv dayangua. *Phytochemistry.* 2008;69(6):1434-1438.
54. Phillis J, Wu P. The role of adenosine and its nucleotides in central synaptic transmission. *Progr Neurobiol.* 1981;16(3-4):187-239.
55. Schwabe U. General aspects of binding of ligands to adenosine receptors. In *Regulatory Functions of Adenosine* (Edited by Berne R M, Rall T W and Rublo R) Martinus Nijhoff, Boston. 1983;77-96.
56. Kirkpatrick K, Richardson P. Adenosine receptor mediated modulation of acetylcholine release from striatal synaptosomes. *Br J Pharmacol.* 1993;110(3):949-954.
57. Kurokawa M, Kirk I, Kirkpatrick K, Kase H, Richardson P. Inhibition by KF17837 of adenosine A2A receptor-mediated modulation of striatal GABA & ACh release. *Br J Pharmacol.* 1994;113(1):43-48.
58. Daly J, Shi D, Nikodijevic O, Jacobson K. The role of adenosine receptors in the central action of caffeine. *Pharmacopsychologia.* 1994;7(2):201-213.
59. Doke P, Tare H, Sherikar A, Shende V, Deore S, Dama G. Central nervous system stimulant effect of the oils obtained from seeds of *Cucurbita maxima*. *Pharm Biol.* 2011;1(1):30-36.
60. Griebel G, Saffroy-Spittler M, Misslin R, Remmy D, Vogel E, Bourguignon J. Comparison of the behavioural effects of an adenosine A1/A2-receptor antagonist, CGS 15943A, and an A1-selective antagonist, DPCPX. *Psychopharmacology (Berl).* 1999;103(4):541-544.
61. Ferré S, Popoli P, Giménez-Llort L, Rimondini R, Müller CE, Strömberg I, Ögren SO, Fuxe K. Adenosine/dopamine interaction: implications for the treatment of Parkinson's disease. *Parkinsonism Relat Disord.* 2001;7(3):235-241.
62. Landoni M, Verde C. Capítulo 17. SNC. Fármacos estimulantes centrales y antiepilepticos. Farmacología del Sistema Nervioso Central. In: Botana L, Landoni M, Martín-Jiménez T. *Farmacología y terapéutica Veterinaria*. 1ª Ed. Mc Graw Hill- Interamericana. Madrid, España. 2002. 208-220.
63. Kirschman J, Suber R. Recent food poisonings from cucurbitacin in traditionally bred squash. *Food Chem Toxicol.* 1989;27(8):555-556.
64. Szakács G, Váradi A, Özvegy-Laczka C, Sarkadi B. The role of ABC transporters in drug absorption, distribution, metabolism, excretion and toxicity (ADME-Tox). *Drug Discov Today.* 2008;13(9-10):379-393.
65. Ruiz J. Factores fisiológicos que modifican la acción de los fármacos en medicina veterinaria. *Rev Col Cienc Pec.* 2001;14(1):36-48.
66. Fakioglu H, Gelvez J, Torbati D, Glover M, Olarte J, Camacho M, Wolfsdorf J. Aminophylline therapy during endotoxemia in anesthetized spontaneously breathing rats. *Pharmacol Res.* 2004;49(1):45-50.
67. Sciuto A, Strickland P, Kennedy T, Gurtner G. Postexposure treatment with aminophylline protects against phosgene-induced acute lung injury. *Exp Lung Res.* 1977;23(4):317-332.
68. Hsu K, Wang D, Chang M, Wu C, Chen H. Pulmonary edema induced by phorbol myristate acetate is attenuated by compounds that increase intracellular cAMP. *Res Exp Med.* 1996;196(1):17-28.
69. Wang L, Cherednichenko G, Hernandez L, Halow J, Camacho SA, Figueredo V, Schaefer S. Preconditioning limits mitochondrial Ca (2+) during ischemia in rat hearts: role of K(ATP) channels. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2001;280(5):H2321-H2328.
70. Zhao Z, Sato H, Williams M, Fernandez A, Vinten-Johansen J. Adenosine A2-receptor activation inhibits neutrophil-mediated injury to coronary endothelium. *Am J Physiol.* 1996;271(4):H1456-1464.
71. Pamerter M, Dzal A, Milsom W. Adenosine receptors mediate the hypoxic ventilatory response but not the hypoxic metabolic response in the naked mole rat during acute hypoxia. *Proc Biol Sci.* 2015;282(1800):20141722.

72. Wei M, Kuukasjärvi P, Laurikka J, Honkonen E, Kaukinen S, Laine S, Tarkka M. Cardioprotective effect of adenosine pretreatment in coronary artery bypass grafting. *Chest*. 2001;120(3):860-865.
73. Bernásková K, Slamberová R, Mares P. GABA uptake blocker NNC-771 exhibits marked anticonvulsant action in two cortical epileptic models in immature rats. *Epilepsia*. 1999;40(9):1184-1189.

Conflicto de interés: Los autores declaran que no existen conflictos de intereses relacionados con el presente artículo

Contribución de los autores: **Dumar Alexander Jaramillo Hernández:** realizó el diseño experimental, la metodología de la investigación, el análisis estadístico, la redacción y revisión del documento. **Doris Juliette Tamayo Rojas:** participó en los experimentos y en la redacción y revisión del documento. **Luz Natalia Pedraza Castillo:** participó en los experimentos y en la redacción y revisión del documento. **Anita Isabel Roque Rodríguez:** participó en los experimentos y en la redacción y revisión del documento. Todos los autores revisaron y aprobaron la versión final del documento

Este artículo se encuentra bajo licencia [Creative Commons Reconocimiento-NoComercial 4.0 Internacional \(CC BY-NC 4.0\)](https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/)