

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA



EFECTO DE LA ADMINISTRACION ORAL DEL Pteridium aquilinum EN CONEJOS

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA
P R E S E N T A
VICTOR MANUEL GONZALEZ TINOCO

M.V.Z. MSC. ARMANDO MATEOS POUMIAN
ASESORES,

M.V.Z. MSG. APOLINAR CRUZ GOMEZ
MEXICO, D F. 1982



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

TESIS CON FALLA DE ORIGEN

I N D I C E

	Pág.
I. RESUMEN	1
II. INTRODUCCION	3
III. MATERIAL Y METODOS	9
IV. RESULTADOS	16
V. DISCUSION	32
VI. CONCLUSIONES	39
VII. BIBLIOGRAFIA	40

EFFECTO DE LA ADMINISTRACION ORAL DEL
Pteridium aquilinum EN CONEJOS.

Asesores: M.V.Z. MSc. Armando Mateos Poumián.
M.V.Z. MSc. Apolinar Cruz Gómez.

I. RESUMEN

Se evaluó el efecto de la administración oral de diferentes concentraciones de helecho macho (Pteridium aquilinum) en sus dos estados, joven y adulto, en conejos. Se utilizaron 28 conejos de la raza Nueva Zelanda, formándose 7 grupos de 4 conejos cada uno. Los grupos y tratamientos se hicieron de la siguiente forma: I) Extracto acuoso al 5% de helecho joven; II) Pellets al 12% de helecho joven; III) Pellets al 25% de helecho joven; IV) Extracto acuoso al 5% de helecho adulto; V) Pellets al 12% de helecho adulto; VI) Pellets al 25% de helecho adulto y VII) Testigo. Se hicieron las siguientes pruebas de laboratorio y observaciones: consumo de alimento y extracto; biometría hemática; calcio y fósforo sérico; lactato deshidrogenasa y peso. La duración del experimento fue de 5 meses. Posteriormente se sacrificaron los animales y se tomaron muestras de hígado, riñón y vejiga para estudio histopatológico. Los conejos prefirieron el Pteridium aquilinum en forma sólida más que en la forma líquida, y con-

sumieron más el estado adulto de la planta que el estado joven. Los valores obtenidos para L, V.G.M. y H.G.M. resultaron ligeramente altos de acuerdo a los reportados como normales para esta especie. La relación 2:1 Calcio-Fósforo sólo se mantuvo en el lote Testigo. Se encontraron diferencias estadísticamente significativas ($P < 0.05$) en leucocitos, eosinófilos, Fósforo y peso. No se presentó durante el período de experimentación el signo de hematuria, ni lesiones macroscópicas en hígado, riñón y vejiga. Histopatológicamente se observó hiperplasia epitelial en vejiga y lesiones de tipo congestivo y hemorragias en hígado, riñón y vejiga. No se presentaron lesiones de tipo neoplásico en ningún órgano como lo menciona la literatura. Se presentaron más cambios en los animales que consumieron la planta adulta. Los resultados antes obtenidos nos hacen suponer que la concentración máxima utilizada fue muy baja y/o el período de experimentación fue muy corto.

II. INTRODUCCION

La hematuria, también conocida como hematocituria, hemacituria o hematuresis, es la presencia de corpúsculos sanguíneos en la orina (8).

Esta entidad nosológica está dividida en causas pre-renales, renales y posrenales. Entre las causas prerrenales de hematuria se citan septicemias y púrpura hemorrágica acompañadas de lesiones vasculares. Entre las causas renales se incluyen las glomerulonefritis agudas por Estreptococos, Endocarditis, Toxoplasmosis, Hepatitis Canina Infecciosa, Cólera Porcino, Salmonelosis y algunas intoxicaciones; infarto renal, afecciones tubulares como consecuencia de intoxicaciones con sulfamidas y pielonefritis (Corynebacterium renale) y traumatismo del riñón. La hematuria posrenal es propia especialmente de los cálculos (en cuya matriz abundan los silicatos y los carbonatos) y de la cistitis (Escherichia coli, Proteus vulgaris, Estreptococos, Staphylococos y Corynebacterium renale) (4, 18).

La Hematuria Enzoótica del ganado vacuno es una enfermedad afebril que se caracteriza por presencia de sangre en la orina y en casos avanzados, por procesos tumorales de forma y tamaño variable en la pared vesical, así como también hemorragias e inflamación leve de la vejiga urinaria (4, 9, 18, 20, 31, 37, 38, 46).

Esta enfermedad es conocida con los siguientes nombres: Hematuria esencial, Cistitis crónica hemorrágica, Cistitis verrucosa, Aguas rojas, Hematuria enzoótica, Hematuria vesical bovina, Cistitis hemorrágica, Hematuria crónica de los bovinos, y otros nombres (20).

La etiología de los tumores vesicales al principio permaneció obscura. Sin embargo, después se consideraron como responsables la carencia de sales minerales en el suelo y plantas, y a toda una serie de agentes patógenos, tales como bacterias, coccidias, filarias, distomas, entamoebas, así como virus y hongos, tierra proveniente de zonas hematúricas y plantas (20, 27, 28, 37).

La Hematuria Enzoótica bovina se ha presentado en las regiones montañosas del poblado de Darjeeling en la India, en el Continente Europeo, Islas Británicas, Japón, Australia, Estados Unidos, México y Centro y Sudamérica (9, 16, 18, 24, 37, 38, 39).

La primera referencia que se tiene de la Hematuria Enzoótica corresponde a la presentada por Tophan en 1787 (46).

Se ha observado frecuencia elevada de esta enfermedad en zonas con presencia de helecho macho (Pteridium aquilinum); en Brasil se estableció que existe una relación entre el helecho macho y la Hematuria enzoótica bovina (4, 9, 18, 24, 33).

La intoxicación por esta planta fue reportada por primera vez en 1893 en Inglaterra por Storrar, W.L. (17).

En México es conocida con los nombres de Ocopetate o Pesma; es una planta perene que se reproduce por medio de esporas y por rizomas rastreros, las frondas son esparcidas, erectas, bastas, los últimos segmentos son oblongos o triangulares (19, 24, 35). Fig. 1.

Se ha comunicado su presencia en la Sierra Norte del Estado de Puebla, en los municipios de Teziutlán, Hueytamalco, Huauchinango, Zihuateutla, Nuevo Necaxa, Pahuatlán, Tlacuilotepec, Naupan, Xicotepec de Juárez y el municipio de Huayacocotla en Veracruz, así como en los estados de México y Morelos, entre otros (24).

El helecho macho se encuentra en regiones templadas; en Gran Bretaña es más abundante en el Norte y el Oeste, donde se estima que cubre más de 400,000 hectáreas; está muy extendido por América del Norte y otras muchas zonas del mundo (16, 23).

Los principios tóxicos, aunque no están bien determinados, se piensa que pueden ser:

- a) Sustancias parecidas al Tricloroetileno.
- b) Un glucósido cianogénico.
- c) Una tiaminasa.

SISTEMA DE TALLOS SUBTERRANEOS DEL HELECHO

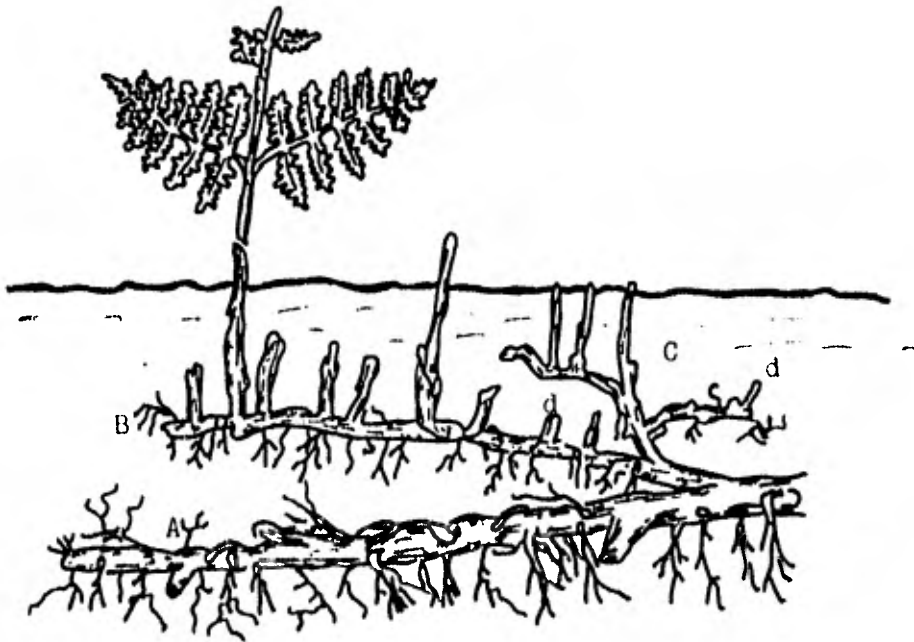


FIG. 1.- A, prolongación del rizoma principal; B, ramificación grande del rizoma principal, con hojas cerca del ápice; C, ramificación del rizoma, de desarrollo limitado; d, yemas latentes.

- d) Un factor de anemia aplástica.
- e) Un factor de hematuria.
- f) Factores cancerígenos,

como los cita la literatura (4, 16, 18, 19, 23).

Sin embargo, parece ser que el responsable de las propiedades carcinogénicas es un tanino condensado aislado por Ching, Y.W., et al., en 1976 (6).

Los taninos de las plantas comúnmente usadas internamente por los nativos de las Islas de Curazao y Antillas Holandesas se han sugerido recientemente como los agentes causantes del cáncer esofágico humano en esta población. En Japón esta planta (Pteridium aquilinum) es usada como alimento de consumo humano en varios lugares (26, 50).

Se ha demostrado que el contenido en taninos de las plantas cambia con la estación del año, y se dice que esto coincidiría con el modo de presentación de la hematuria; hay evidencias que las condiciones geográficas, estacionales y climáticas tienen influencia sobre las propiedades carcinogénicas del helecho macho, así como también su estado de madurez (14, 23, 41, 46).

El helecho macho (Pteridium aquilinum) ha sido asociado muchas veces con la Hematuria Enzoótica bovina y la administración de esta planta en condiciones experimentales ha sido

capaz de producir tumores vesicales en bovinos y ratas; adenocarcinomas y sarcomas en ratas, y leucemia en ratones (9, 20, 24, 27, 28, 29, 30, 33, 46, 50).

Se ha demostrado que la ingestión de esta planta produce una intoxicación de tipo acumulativo que requiere de 1 a 3 meses para desarrollarse, y en estos casos hay una íntima relación entre la cantidad consumida y el tipo o grado de intoxicación, así como también tiene mucho que ver la época del año, el estado del animal y algunos otros factores (23).

Se dice que los animales son más susceptibles cuando rebasan los 2 años de edad, pero se han reportado muertes de los mismos, cuya edad era menor de los 6 meses (16, 19, 37).

Los tratamientos en estas intoxicaciones son de tipo sintomático y generalmente resultan inútiles cuando la intoxicación ha progresado cierto tiempo, ya que a la fecha no se conocen satisfactoriamente los principios tóxicos de esta planta (Pteridium aquilinum) (24).

El objetivo del presente trabajo es la observación de los efectos de la administración del helecho en animales de laboratorio, y para ello en este caso particular, el animal de elección fue el conejo y la vía de administración la oral, evaluando para tal efecto el consumo que con respecto a esta planta muestren los animales, así como también los cambios hemáticos, séricos y tisulares que se verifiquen durante el proceso de experimentación.

III. MATERIAL Y METODOS

Para la realización del presente trabajo se empleó helecho macho (Pteridium aquilinum) procedente de una zona característica de presentación de hematuria (Hueytamalco, Puebla), que tiene un clima subtropical A(f)c según la clasificación climatológica de Koeppen (47).

La totalidad de la muestra se clasificó en: planta en estado joven (40 a 50 cm. de altura) y planta en estado adulto (más de 60 cm. de altura). Se dejó secar a la sombra para evitar que al sol perdiera sus propiedades químicas; posteriormente este material fue molido, se procedió después a mezclarlo con alimento normal a concentraciones del 12% y 25%, pasándose posteriormente a hacer los pellets. Se hizo también un extracto acuoso al 5%. Para ello se empleó gasa con la que se envolvía la planta molida, se hervía agua, y ésta se hacía pasar a travez de este material y el líquido obtenido se recibía en un recipiente. Estos procedimientos se efectuaron tanto en la planta joven como en la planta adulta.

Se emplearon 28 conejos de la raza Nueva Zelanda blancos, de 3 meses de edad y con un peso promedio de 3.500 Kgs.; con estos animales se formaron 7 grupos de 4 conejos cada uno, cada grupo con 2 machos y 2 hembras respectivamente.

Los grupos y tratamientos se hicieron de la siguiente forma:

<u>GRUPO</u>	<u>TIPO DE PREPARACION</u>	<u>ESTADO DE LA PLANTA</u>
I	Extracto acuoso al 5% de helecho	Joven
II	Pellets 12% de helecho	Joven
III	Pellets 25% de helecho	Joven
IV	Extracto acuoso al 5% de helecho	Adulto
V	Pellets 12% de helecho	Adulto
VI	Pellets 25% de helecho	Adulto
Testigo	Concentrado usual y agua	--

Ya formados los grupos, los animales tuvieron un periodo de adaptación de dos meses, tiempo durante el cual se sometieron a un manejo como el que se les daría durante todo el desarrollo del trabajo.

Antes de iniciar el experimento, a cada animal se le practicó examen de materia fecal mediante las técnicas de Flotación y Mac Master para la determinación cualitativa y cuantitativa respectivamente, de huevecillos de parásitos gastroentéricos en tubo digestivo.

Diariamente se administró .5 Kg. de alimento a cada conejo y se pesó la cantidad de alimento que no fue consumido el día anterior; lo mismo se hizo con el extracto acuoso y el agua. Los datos obtenidos se anotaron en los siguientes formatos de registro:

FORMATO DE REGISTRO PARA CONSUMO DE ALIMENTO

FECHA	LOTE	CONEJO #	ALIM. SUMINISTRADO (gramos)	ALIM. NO CONSUMIDO (gramos)	ALIM. CONSUMIDO (gramos)	OBSERVACIONES

FORMATO DE REGISTRO PARA CONSUMO DE LIQUIDOS

FECHA	LOTE	CORREJO #	ml. SUMINISTRADO	ml. CONSERVADOS	ml. CONSUMIDOS	OBSERVACIONES

Mensualmente se tomaron muestras de sangre, suero, materia fecal y registro de peso corporal, datos que se fueron registrando en forma individual.

La obtención de la sangre fue por punción de la vena marginal de la oreja, recolectándose en tubos de ensayo que contenían heparina al 1% (.05 ml. de la solución por cada 2.5 ml. de sangre (42).

Se efectuaron las siguientes pruebas de laboratorio:

- a) Hematocrito (Ht).
- b) Hemoglobina (Hb).
- c) Cuenta de Glóbulos Rojos (G.R.).
- d) Cuenta de Glóbulos Blancos (G.B.).
- e) Cuenta diferencial leucocitaria:
 - Linfocitos (L).
 - Monocitos (M).
 - Neutrófilos segmentados (N).
 - Neutrófilos en Banda (Bd).
 - Eosinófilos (Eo).
 - Basófilos (Bf).
- f) Índices de Wintrobe:
 - Volúmen Globular Medio (V.G.M.)
 - Hemoglobina Globular Media (H.G.M.)
 - Concentración Media de Hemoglobina Globular (C.M.H.G.)

El Hematocrito se determinó por el método del microhematocrito. La Hemoglobina se cuantificó por el método de la cianometahemoglobina.

La cuenta de Glóbulos Rojos y Glóbulos Blancos se efectuó utilizando el hemocitómetro, empleando para la dilución de los Glóbulos Rojos la solución de Hayem, y para los Glóbulos Blancos el reactivo de Turk (3). Para la cuenta de diferencial leucocitario, los frotis fueron teñidos con el colorante de Wright-Leishman.

Para la recolección del suero se tomaron 6 ml. de sangre, dejándose coagular a temperatura ambiente; los tubos de ensayo conteniéndola se depositaron en baño maría a 37°C durante 3 horas, procediéndose a separar el coágulo del suero y se dejó éste en reposo durante 30 minutos a temperatura ambiente. Posteriormente se centrifugó el suero a 3000 rpm. durante 20 minutos, se pasó el suero sobrenadante a un frasco limpio y se congeló a -20°C hasta su uso.

Al suero se le determinaron las siguientes pruebas:

- a) Calcio (Ca).
- b) Fósforo (P).
- c) Enzima Lactato Deshidrogenasa (L.D.H.).

El Calcio sérico se determinó por el método de microtitulación con ácido Etilendiaminotetracético (E.D.T.A.). El

Fósforo se determinó por el método del ácido Aminonaftolsulfónico (48). La enzima L.D.H. se cuantificó por el método L.D.H.-UV-System (49).

El experimento tuvo una duración de 5 meses; al final de este tiempo se procedió a sacrificar a los conejos por electro shock y se les practicó un examen post-mortem. Se tomó una muestra de hígado, riñones y vejiga de cada uno de los animales, así como también los órganos que presentaron lesiones desde el punto de vista macroscópico. Las muestras fueron incluidas en frascos que contenían formalina bufferada al 10%; posteriormente se procesaron con la técnica rutinaria del laboratorio de histopatología, se hicieron cortes con el micrótopo a 5 micras de espesor y la tinción usada fue la de Hematoxilina y Eosina (21).

Posteriormente, se realizó el análisis estadístico de los resultados de hematología, suero y peso, utilizando el programa S.A.S. (Statistical Analysis System) (2). Las pruebas estadísticas que se efectuaron son: Coeficientes de correlación y Prueba de Duncan.

IV. RESULTADOS

En el cuadro # 1 se muestran los consumos totales encontrados en el experimento para los lotes I (Joven 5%), IV (Adulto 5%) y Testigo.

Podemos observar que los lotes I y IV fueron similares en su consumo, no así el Testigo, el cual fue superior con respecto a los dos lotes anteriores.

En el cuadro # 2 se muestran los consumos totales para los lotes II (Joven 12%), III (Joven 25%), V (Adulto 12%), VI (Adulto 25%) y Testigo.

En general el lote Testigo fue inferior en consumo a los demás lotes. Analizando los dos estados de la planta (Helecho macho joven y Helecho macho adulto) podemos observar que el consumo total de los lotes II y III fue en suma de 166.89 Kgs., y que en los lotes V y VI el consumo fue de 184.22 Kgs., observándose una diferencia de 17.33 Kgs. más para el estado adulto de la planta.

En cuanto a las concentraciones, el lote II fue superior al lote V por una diferencia de 8.36 Kgs., y el lote VI fue superior al lote III por una diferencia de 25.69 Kgs.

En el cuadro # 3 se muestran los promedios y desviaciones estándar para los datos eritrocíticos obtenidos por lotes.

Los valores obtenidos para Ht, Hb y G.R. en todos los lotes están dentro de los valores aceptados como normales por la mayor parte de los autores revisados (1, 7, 15, 22, 32, 40, 44). Además de que las diferencias son mínimas en comparación con el lote Testigo del presente trabajo.

Con respecto a los valores obtenidos para V.G.M., los lotes I, II y Testigo están normales, variando los lotes III, IV, V y VI, que están ligeramente elevados; en H.G.M. los lotes I y Testigo están normales, encontrándose ligeramente elevados los lotes II, III, IV, V y VI. En C.M.H.G. solamente el lote I está ligeramente bajo con respecto a los demás, en los cuales están dentro de los valores normales (7).

En el cuadro # 4 se muestran los valores leucocitarios obtenidos por lote.

En G.B. observamos que en el lote IV se encuentra el valor más alto con respecto a los lotes restantes y el grupo Testigo; sin embargo, caen dentro de los valores reportados como normales (1, 5, 7, 10, 15, 32, 40, 44, 45).

Los valores obtenidos para M en todos los lotes caen dentro de los aceptados como normales (7, 15, 40).

En cuanto a los valores obtenidos para N y Bd es difícil compararlos con los valores normales, en vista de que

todos los valores reportados los engloban en el grupo de neutrófilos sin especificar cuáles son para segmentados y cuáles son para banda, pero comparándolos con el grupo Testigo, observamos que los valores de neutrófilos segmentados son similares excepto en el lote VI, en el cual está muy bajo; con respecto a neutrófilos en banda, no hubo diferencias con el Testigo. Los resultados obtenidos en este trabajo para eosinófilos son muy elevados, tanto para los lotes experimentales como para el lote Control, de acuerdo a los autores revisados (1, 7, 15, 40, 44).

Los eosinófilos normalmente están presentes en el tejido celular subcutáneo (42), pero tomando en cuenta que el número de éstos se mostró elevado tanto en los lotes experimentales así como en el control, cabe mencionar que la gran mayoría de los conejos en todos los lotes padecieron con cierta regularidad la presencia de Psoroptes cuniculi (Sarna Psoróptica) en los pabellones auriculares, provocando prurito y rascado en el animal; posiblemente esto pudo haber provocado un aumento de eosinófilos en el tejido cutáneo afectado, y por lo tanto un incremento en el valor de los mismos en la cuenta leucocitaria.

En cuanto a los basófilos (Bf) en todos los lotes están en número inferior, excepto en el lote V, en el cual está normal (7). Sin embargo, estos valores no están de

acuerdo con los datos por R.K. Archer, según el cual todos los lotes están ligeramente bajos, excepto el lote V, que se encuentra muy elevado en su valor de Bf (1).

En el cuadro # 5 se muestran los promedios y desviaciones estándar de Ca., P., L.D.H. y Peso.

En lo que corresponde a Ca. P. y L.D.H., no se encontró literatura sobre los valores citados como normales, pero analizándolos con respecto al Testigo, vemos que en cuanto al Ca. los valores difieren aumentando ligeramente en los lotes II, III, V y VI, o disminuyendo ligeramente en los lotes I y IV. En cuanto al P., todos los lotes aumentaron en su valor con respecto al Testigo. Es necesario hacer notar que la relación 2:1 Calcio-Fósforo sólo se conserva en el lote Testigo, no así en los lotes restantes.

En la enzima L.D.H. se observó que en los lotes experimentales los valores obtenidos sobrepasaron el valor del Testigo.

En lo que corresponde a Peso, observamos que en todos los lotes hubo incremento de éste, excepto en el lote III y Testigo, en los cuales el Peso se mantuvo uniforme.

En el cuadro # 6 se muestran los coeficientes de correlación para los resultados de hematología.

Solamente se encontró más del 60% de asociación y alta significancia estadística ($P < 0.01$) en las correlaciones G.R.-V.G.M., G.R.-H.G.M., L-Eo y H.G.M.-C.M.H.G.; las demás correlaciones no se consideraron por tener un bajo nivel de asociación (menor al 60%).

Se explican las correlaciones G.R.-V.G.M. y G.R.-H.G.M. con signo negativo, debido a que para determinar estos índices (V.G.M. y H.G.M.) se requiere el recuento eritrocítico, y al aumentar o disminuir el valor de éste, disminuye o aumenta respectivamente el valor del V.G.M. y del H.G.M. Ahora bien, el valor de la hemoglobina es necesario para calcular los índices H.G.M. y C.M.H.G., de tal forma que el aumento de la hemoglobina se refleja en el aumento de estos dos índices. Por lo tanto, si aumenta el valor de H.G.M., el valor de C.M.H.G. también aumentará, debido a lo cual se explica la correlación H.G.M. - C.M.H.G. con signo positivo.

En cuanto a las correlaciones L-Eo y N-Eo se explica por el hecho de que al leerse el frotis sanguíneo, las células que más se encuentran son los linfocitos y los neutrófilos segmentados, y al aumentar éstos, disminuyen los valores de las demás células blancas (monocitos, neutrófilos en banda, eosinófilos y basófilos); y viceversa, al aumentar el valor de los eosinófilos, disminuyen los valores para linfocitos y neutrófilos segmentados.

En el cuadro # 7 se encuentra la Prueba de Duncan para los datos de hematología, suero y peso obtenidas por lote.

En el presente trabajo solamente hubo diferencias significativas estadísticamente ($P < 0.05$) en G.B., Eo, P. y Peso; los demás resultados no se consideraron por no tener significancia estadística ($P > 0.05$).

En cuanto a G.B., vemos que el lote III, que por cierto tiene el valor más bajo, tiene diferencias estadísticas ($P < 0.05$) con el lote IV y Testigo. El lote IV, que representa el valor más alto, es diferente estadísticamente ($P < 0.05$) con todos los lotes restantes. El lote Testigo, que podríamos decir tiene el valor intermedio, es diferente estadísticamente ($P < 0.05$) de los lotes III y IV.

Observando en el presente cuadro los valores obtenidos por los diferentes lotes para Eo, vemos que el lote IV tiene el valor más alto y es diferente estadísticamente ($P < 0.05$) sólo al lote V, que presenta el valor más bajo; ahora bien, los lotes I y VI son diferentes estadísticamente ($P < 0.05$) al lote V.

Siguiendo con el P., vemos que el lote VI (valor más alto) es diferente estadísticamente ($P < 0.05$) a los lotes I y Testigo. Ahora bien, los lotes I y Testigo que tienen los valores más bajos, son entre sí iguales estadísticamente ($P > 0.05$), pero diferentes a los lotes III, IV y V. Es

necesario considerar también que como se había mencionado en el cuadro # 5, solamente en el lote Testigo se guarda la relación 2:1 Calcio-Fósforo. En cuanto a los valores obtenidos para Peso, el lote II es el que presenta el valor más alto, siendo diferente estadísticamente ($P < 0.05$) a los lotes III, V y Testigo. Los lotes III y Testigo son los que tienen los valores más bajos, pero estadísticamente iguales ($P > 0.05$) entre sí y diferentes a los lotes I, IV y VI.

PATOLOGIA MACROSCOPICA.-

En lo que respecta al examen macroscópico Post-mortem, todos los conejos presentaban el hígado, el riñón, la vejiga y demás órganos aparentemente normales, excepto 2 machos pertenecientes al lote I (Joven 5%) y lote II (Joven 12%), respectivamente, que presentaban ligera congestión sanguínea en la mucosa vesical.

PATOLOGIA MICROSCOPICA.-

Al efectuar el estudio histopatológico del hígado, riñones y vejiga se encontraron las siguientes lesiones:

Hígado.- Hemorragia y congestión que afectaban el parenquima hepático. Estos trastornos se presentaron en todos los animales en experimentación.

Riñones.- Hemorragias en corteza y médula renal y congestión glomerular presentes en todos los lotes experimentales. Hemorragias en glomérulos solamente en los lotes I, III, IV y VI, y congestión en la corteza renal en los lotes II, V y VI.

Vejiga.- Congestión en las capas musculares presente en todos los lotes. Congestión de la submucosa en los lotes I, II, V y VI. Denudación de la mucosa en los lotes I, II y VI. Hemorragias en la capa muscular en los lotes III, V y VI. Hemorragias en sub-mucosa en los lotes I y VI. Hiperplasia del epitelio vesical en los lotes V y VI. Degeneración hidrópica en las células epiteliales de la vejiga de los animales del lote VI, y hemorragias en la mucosa vesical en los animales del lote II.

Es necesario hacer notar que durante el proceso de experimentación se registraron dos bajas: una que correspondió a una hembra perteneciente al lote III (joven 25%), sacrificándose por fractura de vértebra lumbar, y otra que correspondió a un macho perteneciente al lote Testigo (concentrado usual y agua), diagnosticándose en su caso pasteurelosis.

Cabe mencionar también que los resultados de los exámenes coproparasitológicos (flotación y Mac Master) resultaron negativos para todos los conejos en los muestreos que se efectuaron durante el transcurso del trabajo.

C U A D R O 1

CONSUMOS TOTALES DE EXTRACTO Y DE AGUA

LOTE	CONSUMO TOTAL Lts.
I (Joven 5%)	144.33
IV (Adulto 5%)	146.47
Testigo (Agua)	170.31

C U A D R O 2

CONSUMOS TOTALES DE ALIMENTO CON
HELECHO Y DE CONCENTRADO USUAL

L O T E	CONSUMO TOTAL Kgs.
V (Adulto 12%)	77.56
III (Joven 25%)	80.97
II (Joven 12%)	85.92
VI (Adulto 25%)	106.66
Testigo (Concentrado)	64.05

C U A D R O 3

MEDIAS Y DESVIACIONES ESTANDAR DE LOS VALORES ERITROCITICOS OBTENIDOS POR LOTES

LOTE	Ht %	Hb gm/100ml	G.R. 1mm ³	V.G.M. μ^3	H.G.M. $\mu\mu g$	C.M.H.G. %
I N = 23	43.95 ± 3.68	13.53 ± 1.61	6484347.82 ± 1092856.24	68.22 ± 12.60	21.34 ± 3.85	30.91 ± 3.76
II N = 24	43.27 ± 3.15	13.84 ± 1.95	6610666.66 ± 1356022.40	66.21 ± 18.47	23.17 ± 7.15	33.46 ± 7.20
III N = 21	43.57 ± 4.87	14.56 ± 1.21	6156666.66 ± 1324633.28	73.00 ± 13.26	24.71 ± 5.62	33.74 ± 3.74
IV N = 23	43.86 ± 4.20	14.36 ± 1.45	6042173.91 ± 1176786.67	74.75 ± 13.08	24.53 ± 4.64	32.77 ± 1.98
V N = 24	43.20 ± 5.06	14.30 ± 2.03	6155000.00 ± 1285108.69	72.25 ± 13.33	24.06 ± 5.82	33.19 ± 3.69
VI N = 24	43.47 ± 3.67	14.42 ± 0.91	6330833.33 ± 1004039.30	70.45 ± 9.85	23.45 ± 3.69	33.28 ± 2.17
TESTIGO N = 21	43.16 ± 3.12	13.72 ± 2.00	6465238.09 ± 1089213.56	68.45 ± 11.64	21.73 ± 11.64	31.82 ± 4.19

μ^3 = micras cúbicas

$\mu\mu g$ = micromicrogramos

C U A D R O 4

MEDIAS Y DESVIACIONES ESTANDAR DE LOS VALORES LEUCOCITARIOS OBTENIDOS POR LOTES

LOTE	G.B. 1mm ³	L %	M %	N %	Bd %	Eo %	Bf %
I	7904.34	42.78	5.21	13.21	0.26	38.73	0.04
N = 23	± 2838.81	± 18.32	± 3.43	± 15.71	± 1.25	± 24.80	± 0.20
II	7762.70	45.16	7.91	12.25	0.37	32.37	0.29
N = 24	± 2621.89	± 20.12	± 11.71	± 14.25	± 1.46	± 22.55	± 1.23
III	6561.90	53.09	5.23	10.14	0.00	31.42	0.09
N = 21	± 1936.74	± 17.55	± 3.23	± 11.74	± 0.00	± 18.07	± 0.30
IV	11041.30	42.62	5.91	11.30	0.30	39.73	0.08
N = 23	± 4045.72	± 17.60	± 4.07	± 14.60	± 1.25	± 22.35	± 0.41
V	8240.00	52.45	7.91	16.70	0.04	22.79	8.08
N = 24	± 2153.51	± 15.84	± 4.72	± 12.68	± 0.20	± 18.34	± 0.28
VI	7991.66	46.87	5.12	9.70	0.04	38.20	0.04
N = 24	± 2787.03	± 18.84	± 3.15	± 15.91	± 0.20	± 22.25	± 0.20
TESTIGO	9223.80	52.90	5.76	15.80	0.04	25.33	0.14
N = 21	± 2894.33	± 17.07	± 3.57	± 15.65	± 0.21	± 21.32	± 0.47

C U A D R O 5

MEDIAS Y DESVIACIONES ESTANDAR DE LOS VALORES DE CALCIO, FOSFORO, LACTATO DESHIDROGENASA Y DE PESO CORPORAL OBTENIDOS POR LOTES.

LOTE	Ca mg/100ml	P mg/100ml	L.D.H. mU/ml	Peso Kgs.
I	7.23	8.29	91.63	3.881
N = 23	± 3.66	± 3.49	± 43.84	± 0.322
II	13.45	10.50	96.67	4.070
N = 24	± 11.65	± 5.67	± 44.58	± 0.409
III	13.30	13.98	82.61	3.536
N = 21	± 8.80	± 9.19	± 35.46	± 0.392
IV	11.61	14.48	88.29	3.930
N = 23	± 10.28	± 9.62	± 37.54	± 0.465
V	15.26	13.79	80.23	3.645
N = 24	± 13.90	± 9.88	± 39.73	± 0.200
VI	15.60	15.22	76.32	3.876
N = 24	± 12.74	± 10.96	± 44.35	± 0.533
TESTIGO	± 13.15	7.34	66.95	3.473
N = 21	± 10.98	± 2.89	± 41.13	± 0.707

El valor de N para L.D.H. en los lotes II, V y VI es de 16; en los lotes I y IV es de 15 y en los lotes III y Testigo es de 13.

mU/ml = miliunidades por mililitro.

C U A D R O 6

COEFICIENTES DE CORRELACION PARA LOS
RESULTADOS DE HEMATOLOGIA

	Eo	V.G.M.	H.G.M.	C.M.H.O.
G.R.		-.8294 **	-.6313 **	
L	-.6961 **			
N	-.6962 **			
H.G.M.				.6135 **

** ALTA SIGNIFICANCIA ($P < 0.01$)

C U A D R O 7

PRUEBA DE DUNCAN PARA LOS VALORES DE GLOBULOS
BLANCOS, EOSINOFILOS, FOSFORO Y PESO OBTENI--
DOS POR LOTE.

LOTE	G. B. mm ³	Eo %	P mg/100ml	Peso Kgs.
I	7904.34 ^{bc}	38.73 ^a	8.29 ^b	3.881 ^{ab}
II	7762.70 ^{bc}	32.37 ^{ab}	10.50 ^{ab}	4.070 ^a
III	6561.90 ^c	31.42 ^{ab}	13.98 ^a	3.536 ^c
IV	11041.30 ^a	39.73 ^a	14.48 ^a	3.930 ^{ab}
V	8240.00 ^{bc}	22.79 ^b	13.79 ^a	3.645 ^{bc}
VI	7991.66 ^{bc}	38.20 ^a	15.52 ^a	3.876 ^{ab}
TESTIGO	9223.80 ^b	25.33 ^{ab}	7.34 ^b	3.473 ^c

Los promedios con la misma literal no tienen dife-
rencia significativa (P>0.05).

V. DISCUSION

Al tratar de evaluar el efecto de diferentes concentraciones (5% en extracto, 12% y 25% en pellets) de helecho macho (Pteridium aquilinum) en sus dos estados, Joven y Adulto, se encontró en el presente trabajo que los conejos consumieron menos cuando se les dió en forma líquida (extracto) que cuando se les dió en forma sólida (pellets), en la cual consumieron más. Esto puede ser debido a que el animal es más renuente a consumir sustancias extrañas en el agua que en el alimento, además que es en éste en donde se encuentran los nutrientes indispensables para la recuperación de sustancias vitales perdidas durante el metabolismo en el organismo animal.

Se ha aceptado que la ingestión prolongada de helecho macho es la causa de hematuria vesical en bovinos (9, 24, 28, 31, 36, 39). Sin embargo, en ratas y ratones no se reporta la presencia de hematuria por consumo de helecho macho, lo cual concuerda con el resultado del presente estudio. Esto nos hace pensar que la presencia de hematuria por ingestión de helecho puede estar supeditada a una especificidad de especie, presentándose este signo en especies mayores y no encontrándose en especies menores, en este caso, a animales de laboratorio como son las ratas, los ratones y los conejos (41, 50).

Se ha mencionado que las alteraciones del hemograma con que se acompaña la hematuria se manifiesta por una disminución del número de eritrocitos y de la hemoglobina, en relación con la pérdida de sangre, y por lo tanto en la mayoría de los casos, en el sentido de una anemia normocrómica, lo cual concuerda con el presente trabajo, ya que no se presentaron cambios en los valores del hematocrito, hemoglobina, cuenta total de eritrocitos y en los índices de Wintrobe (V.G.M., H.G.M. y C.M.H.G.), ni hubo diferencias estadísticamente significativas en estos resultados, y esto fue debido a la ausencia de sangre en la orina, ya que como se había mencionado antes, no se presentó la hematuria durante todo el período de tiempo que duró el experimento (37).

En un trabajo efectuado por Schacham, y col. en ratas de 5 semanas de edad a las cuales se les dió helecho macho en la dieta a una concentración del 50% durante 60 días, se encontró disminuciones significativas en leucocitos, linfocitos y eosinófilos, y elevaciones significativas en neutrófilos (41), lo cual difiere de los resultados obtenidos en el presente estudio, ya que hubo en leucocitos diferencias significativas, pero caen dentro de los valores reportados como normales. En cuanto a linfocitos, no se obtuvo diferencias significativas y en lo que corresponde a eosinófilos, no hubo diferencias significativas con respecto al Testigo, pero sí hubo en todos los lotes una eosinofilia marcada, lo

cual posiblemente se debió a infecciones parasitarias por Psoroptes cuniculi (Sarna psoróptica). En cuanto a neutrófilos no se obtuvo diferencias significativas, lo mismo que en las demás células (monocitos, neutrófilos en banda y basófilos). La disparidad en estos valores puede ser debida a la concentración de helecho que se dió en la dieta, ya que la diferencia de concentraciones utilizadas en el trabajo antes mencionado y el presente es bastante marcada.

Rosenberger, G., reporta el caso de un bovino que consumió 2 Kgs. de heno de helecho diariamente y a los 10 meses presentó hematuria, así como también una novilla que durante 15 meses comió de 2 a 3 Kgs. diariamente, muriendo al final de este período (37). Samaddar, J., obtuvo la presencia de hematuria entre 1 y 3 meses de 7 vacas que consumieron una dieta conteniendo 50% de helecho (39). Evans, W.C., reporta que 40 ratas jóvenes que durante 60 días consumieron pellets que contenían un 33% de helecho desecado murieron entre los 7 y 12 meses de haberse iniciado el experimento (12). Todo lo cual, considerando que la duración del presente trabajo fue de 5 meses y la concentración máxima utilizada fue del 25%, nos hace suponer que el período de experimentación fue muy corto y/o la concentración utilizada muy baja.

Rave, V.G., encontró en 8 bovinos hembras hematóricas que habían pastado en potreros con presencia de Pteridium aquilinum, que los niveles de Calcio y Fósforo eran norma-

les (34), difiriendo del presente, ya que en éste se encontró que había elevaciones y disminuciones en el ión Calcio, sin haber diferencias estadísticamente significativas. En cuanto al Fósforo, se encontraron elevaciones estadísticamente significativas, y solamente se mantuvo la relación 2:1 Calcio-Fósforo en el lote Testigo; en los demás lotes no se presentó ninguna relación.

Se han asociado elevaciones de la enzima Lactato Deshidrogenasa con la presencia de varios tipos de carcinomas, así como también en infartos al miocardio, pericarditis acompañadas de congestión hepática, y enfermedades del hígado y del riñón (11). Sin embargo, su uso como prueba diagnóstica de la presencia de tumores es muy reducido debido a su baja confiabilidad, ya que ha habido presencia de tumores encontrándose que los valores de L.D.H. son normales (48). A pesar de haberse encontrado en este trabajo valores altos de esta enzima, no se encontraron procesos tumorales francos.

Los resultados obtenidos en cuanto al Peso nos indican un incremento de éste en los lotes tratados, lo cual difiere con lo reportado en ratas, en ratones y en bovinos, los cuales mencionan una baja en el peso corporal en los animales estudiados (34, 37, 41, 50). Aquí puede suponerse que el incremento de peso en los animales tratados pudiera deberse a que estos animales, al no presentar ningún síntoma de hematuria y por ende anemia, la conversión alimenticia no se

vió afectada. La otra posibilidad es que esta planta puede tener ciertas propiedades alimenticias a estas concentraciones, y en un tiempo que no rebase los 5 meses, tiempo en el cual vimos que no se presentó ningún problema que conllevara a la muerte de algunos de estos animales.

En animales que han consumido helecho macho en forma natural o experimental se han encontrado: hemorragias petequiales y crecimientos papilomatosos en intestino delgado, adenocarcinomas en mucosa intestinal, hemorragias y necrosis en hígado, riñones edematosos, hemorragias múltiples en el tracto urinario, hemorragias en vejiga urinaria, hiperplasia de la pared vesical, y papilomas y fibrosarcomas en la vejiga urinaria (9, 13, 24, 28, 39, 41). En el presente trabajo solamente 2 conejos (lotes I y II) se encontró ligera congestión sanguínea en la mucosa vesical, en los otros animales el hígado, el riñón, la vejiga y demás órganos se encontraban aparentemente normales. Esto pudiera deberse a que las concentraciones empleadas y/o el tiempo que duró el trabajo hayan sido insuficientes para lograr producir alguna lesión en estos órganos.

Histopatológicamente se reporta que bovinos que consumieron helecho macho presentaban hemorragias en hígado y riñones, necrosis centro lobulillar y degeneración grasa en hígado, hiperplasia y metaplasia del epitelio vesical, así

como también cambios neoplásicos y cavernización angiomatosa, proliferación epitelial papilomatosa con vascularización más o menos intensa con tendencia a la infiltración cancerógena maligna de toda la pared vesical (27, 28, 37), lo cual difiere del presente trabajo en cuanto a la presencia de procesos tumorales, ya que no estuvieron presentes en este caso, pero concuerdan en lo que corresponde a la presencia de lesiones hemorrágicas y congestivas en el hígado y riñones, las cuales pudieron haberse producido por la ingestión del helecho macho o por el método de sacrificio empleado en los animales de este estudio (electro shock).

Sin embargo, los autores antes mencionados concuerdan con nuestro resultado obtenido en lo que corresponde a la hiperplasia del epitelio vesical. Esta lesión se va vascularizando, dando forma a un hemangioma y que posteriormente, al seguir actuando el irritante sobre la mucosa vesical se desarrolla en forma de pólipo verrucosa o de tipo de coliflor; estas neoplasias se rompen fácilmente tanto en la luz para producir hematuria, como en la pared de la vejiga para producir hematoma.

Es interesante mencionar que revisando la literatura no se encontró ningún trabajo sobre helecho macho (Pteridium aquilinum) en el cual se considerara el estado de edad de la planta.

En el presente estudio se observó que los conejos consumieron más la planta en estado adulto que la joven cuando se les dió en extracto, y lo mismo cuando se les proporcionó en forma de pellets, además de que los valores más altos significativamente en glóbulos blancos y Fósforo se encontraron en los animales que consumieron el helecho en estado adulto. Lo mismo sucede en cuanto al peso de los animales, aunque sin embargo el alza es ligera con respecto a los animales que consumieron la planta joven.

Las lesiones de tipo congestivo y hemorragias son comunes en los tres órganos estudiados, sin importar la concentración de la planta ni el estado de la misma; no así la hiperplasia del epitelio vesical, la cual solamente se presentó en los conejos que consumieron la planta adulta.

VI. CONCLUSIONES

- Los conejos consumieron más el Pteridium aquilinum cuando se les proporcionó en forma sólida que cuando se les administró en forma líquida.
- Se encontró que los animales prefirieron más el estado adulto de la planta que el estado joven.
- Aunque la concentración máxima utilizada se considera baja, sin embargo fue capaz de provocar modificaciones en la cuenta de glóbulos blancos, en la relación 2:1 Calcio-Fósforo y en el peso corporal.
- Se presentó hiperplasia del epitelio vesical en conejos que consumieron el helecho macho en estado adulto.
- Los resultados antes obtenidos nos hacen suponer que la concentración máxima utilizada fue muy baja, o que el período de experimentación fue muy corto, por lo cual no resultó tan tóxica como otros autores mencionan. Posiblemente si se aumentara la concentración o el tiempo de experimentación se ampliara, las lesiones y los trastornos serían más dramáticos.

VII. BIBLIOGRAFIA

- 1.- ARCHER, R.K.: Técnicas de Hematología Animal. 1a. ed. Editorial Acribia. España, 1967.
- 2.- BARR, J.A. and GOODNIGHT, J.H.: A Users Guide to the Statistical Analysis System. North Carolina State University. University Press, 1972.
- 3.- BENJAMIN, M.N.: Outline of Veterinary Clinical Pathology. The Iowa State Press. Ames, Iowa, U.S. A., 1974.
- 4.- BLOOD, D.C. and HENDERSON, J.A.: Medicina Veterinaria. 4a. ed. Editorial Interamericana, 1976.
- 5.- BUSHNELL, L.D. and BANGS, E.F.: A study of the Variation in Number of Blood Cells of Normal Rabbits. J. Infect. Dis., 39: 291, 1926. (citado por Schalm, O. W., 1975).
- 6.- CHING, Y.W., CHUNG, W.C., PAMUKCU, A.M. and BRYAN, G.T.: Identification of Carcinogenic Tannin Isolated from Bracken Fern (Pteridium aquilinum). J. Natl. Cancer Inst., 56: 33-36 (1976).
- 7.- COFFIN, D.L.: Laboratorio Clínico en Medicina Veterinaria. La Prensa Médica Mexicana, 1962.
- 8.- Diccionario Terminológico de Ciencias Médicas. 11a. ed. Editorial Salvat, 1977.
- 9.- DOBEREINER, J. OLSON, C., BROWN, R., PRICE, J.M. and YESS, N.: Metabolites in Urine of Cattle with Experimental Bladder Lesions and Fed Bracken Fern. Pesq. Agropec. Bros., 1: 189-199 (1966).
- 10.- DOUGHERTY, T.F. and WHITE, A.: Influence of Hormones on Lymphoid Tissue Structure and Function. Endocrinology, 35: 1, 1944. (citada por Schalm, O. W., 1975).
- 11.- Enzymes in Medical Practice. Boheringer Mannheim Corporation, 1966.
- 12.- EVANS, W.C.: Bracken Poisoning of Farm Animals. Vet. Rec. 76: 365-369, 1964. (citado por Rosenberger, G., 1971).

- 13.- EVANS, W.C. AND MASON, J.: Carcinogenic Activity of Bracken Nature (Lond.), 208: 913-914 (1965).
- 14.- FEENY, P.P. and BOSTOCK, H.: Seasonal Changes in the Tannin Content of Oak Leaves. *Phytochemistry*. 7: 871-880 (1965).
- 15.- GARDNER, M.V.: The Blood Picture of Normal Laboratory Animals. A Review of the Literature 1936-1946. *J. Frankling Inst.* 243: 251, 1947. (citado por Schalm, O. W., 1975).
- 16.- GARNER, R.J.: *Toxicología Veterinaria*. 3a. ed. Editorial Acribia. España, 1970.
- 17.- GIBBONS, W.J., CATCOTT, E.J. and SMITHCORS, J.F.: *Bovine Medicine and Surgery*. 1a. ed. Editorial American Veterinary Publications, 1970.
- 18.- JUBB, K.V.F. and I. KENNEDY, P.C.: *Patología de los Animales Domésticos*. 2a. ed., Vol. I, II. Editorial Labor, 1974.
- 19.- KINGSBURY, J.M.: *Poisonous Plants of the United States and Canada*. 1a. ed. Editorial Prentice Hall, Inc., 1964.
- 20.- KOSTER, S.B.: Hematuria Enzootica dos Bovinos. *Biologico.*, 36: 158-141 (1970).
- 21.- LUNA, L.G.: *Manual of Histologic Staining Methods of the Armed Force Institute of Pathology*. 3a. ed. Editorial McGraw-Hill, New York, 1968.
- 22.- MAC NAMEE, J.K. and SHEEHY, R.W.: The Use of the Small Laboratory Animals for Repeated Clinical Pathological Studies. *Proc. Book Amer. Vet. Med. Ass.*, 89th. Ann. Session, 138, 1952. (citado por Schalm, O. W., 1975).
- 23.- *Manual Merck de Veterinaria*. 1a. ed. Editorial Merck and Co., Inc. 1970).
- 24.- MARTINEZ, H.J.: *Comprobación Etiológica y Estudios Clínicos de la Hematuria Vesical Bovina*. Tesis de Licenciatura. Fac. de Med. Vet. y Zoot. U.N.A.M., México, 1973.
- 25.- NAFTALIN, J.M. and CUSHNIE, G.H.: Pathology of Bracken Poisoning in Cattle. *J. Comp. Path.*, 64: 54-74 (1954).

- 26.- O'GARA, R.W., LEE, C. and MORTON, J.F.: Carcinogenicity of Extracts of Selected Plants from Curazao after Oral and Subcutaneous Administration to Rodents. J. Nath. Cancer Inst., 45: 1131-1144 (1971).
- 27.- PAMUCKU, A.M., OLSON, C. and PRICE, J.M.: Assay of Fractions of Bovine Urine for Carcinogenic Activity after Feeding Bracken Fern (Pteris aquilina) Cancer Res., 26: 1745-1753 (1966).
- 28.- PAMUCKU, A.M., GOKSOY, S.K. and PRICE, J.M.: Urinary Bladder Neoplasms Induced by Feeding Bracken Fern (Pteris aquilina) to Cows. Cancer Res., 27: 917-924 (1967).
- 29.- PAMUCKU, A.M. and PRICE, J.M.: Induction of Intestinal and Urinary Bladder Cancer in Rats by Feeding Bracken Fern (Pteridium aquilinum). J. Nath. Cancer Inst., 43: 275-281 (1969).
- 30.- PAMUCKU, A.M., YALCINER, S. and PRICE, J.M.: Effects of the Coadministration of Thiamine on the Incidence of Urinary Bladder Carcinomas in Rats Fed Bracken Fern. Cancer Res., 30: 2671-2674 (1970).
- 31.- PAMUCKU, A.M., PRICE, J.M. and BRYAN, G.T.: Naturally Occurring and Bracken Fern Induced Bovine Urinary Bladder Tumors. Vet. Pathol. 13: 110-122 (1976).
- 32.- PEARCE, L. and CASEY, A.E.: Blood Counts in Normal Rabbits. J. Exp. Med., 51: 83, 1930. (citado por Schalm, O. W., 1975).
- 33.- PRICE, J.M. and PAMUCKU, A.M.: The Induction of Neoplasms of the Urinary Bladder of the Cow and the Small Intestine of the Rat by Feeding Fern, Cancer Res., 28: 2247-2251 (1968).
- 34.- RAVE, V.G., SANCHEZ, F.O. y LUQUE, F.E.: Estudio Clínico Patológico de la Hematuria Vesical Bovina. Revista ICA Bogotá, Colombia. Vol. XIII.: 4: 671-679 (1978).
- 35.- ROBBINS, W.W., CRAFTS, A.S. y RAYNOR, R.N.: Destrucción de Malas Hierbas. 2a. ed. Editorial UTEHA, 1969).
- 36.- ROSENBERGER, G. and HEESCHEN, W.: Bovine Chronic Haematuria Associated with Bracken Poisoning. Dtsch. Tierarztl. Wschr., 67: 201-202 (1960).

- 37.- ROSENBERGER, G.: Carácter, Manifestaciones, Etiología y Tratamiento de la Hematuria Vesical Crónica del Ganado Vacuno. 2/3 ed., Editorial N. G. Elwert Universitäts- und Verlagsbuchhandlung, Marbury, L.: 185-202 (1971).
- 38.- RUNELLS, A.R., MONLUX, S.W. y MONLUX, W.A.: Principios de Patología Veterinaria. 1a. ed. Editorial CECSA, 1975.
- 39.- SAMADDAR, J.: Role of Pteris aquilina in Enzootic Bovine Haematuria. Indian J. Anim. Sci., 42 (6): 510-514 (1973).
- 40.- SCARBOROUGH, R.A.: The Blood Picture of Normal Laboratory Animals. A compilation of Published Data. Yale J. Biol. Med., 3: 64, 1931-1932. (citado por Schalm, O. W., 1975).
- 41.- SCHACHAM, P., PHILIP, R.B. and GOWDEY, C.W.: Anti hematopoietic and Carcinogenic Effects of Bracken Fern (Pteridium aquilinum) in Rats. Am. J. Res., 31: 191-197 (1970).
- 42.- SCHALM, O.W.: Hematología Veterinaria. 1a. ed. Editorial UTEHA, 1964.
- 43.- SCHALM, O.W., JAIN, N.C. and CARROLL, E.J.: Veterinary Hematology. 3a. ed. Editorial Lea and Febiger, Philadelphia, 1975.
- 44.- SCHERMER, S.: The Blood Morphology of Laboratory Animals. 3a. ed., F.A. Davis, Philadelphia, 1967. (citado por Schalm, O. W., 1975).
- 45.- SCOTT, J.M. and SIMON, C.E.: Experimental Measles. I. The Thermic and Leucocytic Response of the Rabbit to Inoculation with the Virus of Measles, and their Value as a Criteria of Infection. Amer. J. Hyg., 4: 559, 1924 (citado por Schalm, O. W., 1975).
- 46.- SMITH, B.L. and BEATSON, N.S.: Bovine Enzootic Hematuria in New Zealand. N. Z. Vet. J. 18: 115-120 (1970).
- 47.- TAMAYO, G.L.: Geografía General de México. Instituto Mexicano de Investigaciones Económicas, 1962.
- 48.- TIETZ, N.: Fundamentals of Clinical Chemistry. 1a. ed. Editorial W.B. Saunders Co., 1970.

- 49.- WROBLEWSKI, F. and J.S. LA DUE.: Enzymes in Medical Practice. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 90: 210 (1955).
- 50.- YASHICO, Y., TAKAHIDE, K. and HIDEO, H.: Embryotoxic Effects of Feeding Bracken Fern (Pteridium aquilinum) to Pregnant Mice. Toxicology and Applied Pharmacology., 28: 264-268 (1974).