

ARTÍCULO RESEÑA

Plantas tóxicas e inocuidad alimentaria: Hematuria Enzoótica Bovina por *Pteridium* spp. un problema relevante de salud

Evangelina Marrero Faz^I, Ángela Calderón Tobar^{II}

^ICentro Nacional de Sanidad Agropecuaria, CENSA, Apartado 10, San José de las Lajas, Mayabeque, Cuba.

Correo electrónico: eva.marrero@infomed.sld.cu; ^{II}Universidad de Bolívar, UEB, Guaranda, Bolívar, Ecuador

RESUMEN: La inocuidad alimentaria resulta un tema de alta prioridad para aquellos actores involucrados en la producción agropecuaria y la seguridad del consumidor. En este contexto las intoxicaciones por plantas en la ganadería ocasionan la eliminación de compuestos altamente dañinos los que de forma reiterada llegan hasta el consumidor a través de la leche y las carnes de los animales intoxicados. Un ejemplo relevante lo constituye *Pteridium* spp., helecho altamente invasivo capaz de dominar en áreas de pastoreo de vacunos, con atención a regiones andinas en Latinoamérica. El presente trabajo brinda un enfoque holístico de esta materia tomando como ejemplo la entidad clínica Hematuria Enzoótica Bovina (HEB), causada por la ingestión de *Pteridium* spp. contentiva del norsesquiterpeno ptaquilósido, compuesto carcinogénico que puede alcanzar niveles elevados en la planta influenciado por factores ambientales y fenológicos, que ocasiona neoplasias malignas en vejiga urinaria, con evolución fatal. La eliminación por la leche del ptaquilósido en los rebaños vacunos expuestos al consumo constante del helecho resulta además de alta potencialidad tóxica para los consumidores. De ahí que se enfatice en la necesidad de implementar acciones de vigilancia y prevención, y prestar máxima atención a la inocuidad de la leche en las zonas ganaderas con HEB y con ello minimizar el riesgo de los consumidores de contraer cáncer gástrico.

Palabras clave: inocuidad alimentaria, plantas tóxicas, Hematuria Enzoótica Bovina, *Pteridium* spp., ptaquilósido.

Toxic plants and food safety: Enzootic Bovine Haematuria by *Pteridium* spp. a relevant health hazard

ABSTRACT: Food safety is a high priority issue for those factors involved in agricultural production and consumer safety. In this context, plant poisoning in livestock causes the elimination of the highly damaging compounds that repeatedly reach the consumer through milk and meat from animals intoxicated. A relevant example is *Pteridium* spp., a highly invasive fern able to dominate in cattle grassing areas, with attention to Latin American Andean regions. This paper provides a holistic approach to this issue using the example of Enzootic Bovine Hematuria (EBH), a clinical entity caused by ingestion the of *Pteridium* spp. containing the carcinogenic norsesquiterpene ptaquiloside that can reach high levels in the plant influenced by environmental and phenology factors occasioning malignant neoplasias in the bladder, with fatal outcome. The ptaquiloside removal of milk from cows exposed to constant consumption of the toxic fern represents a potential hazard for consumers as well. Hence, it has been emphasized the need of implementing surveillance and prevention actions, and paying a close attention to milk safety in grassing areas with EBH and thereby minimizing the risk of gastric cancer of consumers.

Key words: food safety, toxic plants, Enzootic Bovine Haematuria, *Pteridium* spp., ptaquiloside.

INTRODUCCIÓN

El interés creciente por el conocimiento de los tóxicos naturales, ha cobrado fuerza en la actualidad y constituye, hoy en día, uno de los aspectos más relevantes de la toxicología moderna que ocupa la atención de numerosos científicos, productores de alimentos, personal de la salud pública y directivos de las instituciones regulatorias. La necesidad de alimentos de origen animal no solamente demanda del incremento en cantidad y calidad nutritiva de estos a partir de una explotación comercial correcta de las especies involucradas, es necesario también se tenga presente la disponibilidad de alimentos seguros, desprovistos de sustancias nocivas para los propios animales y consecuentemente para la Salud Pública.

Importancia de las plantas tóxicas para la ganadería y la Salud Pública

Muchos metabolitos secundarios tóxicos que se encuentran presentes en las plantas, pueden afectar la salud humana por el consumo directo del vegetal o ser causa de intoxicaciones indirectas a través de la cadena alimentaria, al consumirse carne, leche y huevos, por lo que resulta un aspecto de vital importancia a tener en cuenta también en la calidad y vigilancia de estos alimentos (1). Por este concepto se reportan pérdidas económicas en países de diferentes continentes, sobre todo, en los de mayor exuberancia en la flora y donde existen crianzas animales extensivas, como es el caso de América Latina y el Caribe, resultando agravados los países más pobres con un grave problema de índole social, por ser la ganadería, en algunas regiones de este continente, el principal sostén familiar y donde con determinada frecuencia se presentan casos de toxicosis por plantas en animales de granja con repercusión en la Salud Pública (2). A modo de ejemplo, en Bolivia un cuadro severo de Hematuria Enzoótica Bovina (HEB) por *Pteridium aquilinum* (bracken, helecho macho) arrojó pérdidas estimadas en más de \$2 millones (USD) cada año en la zona del Chaco Húmedo, Departamento de Tarija, Bolivia, lo que constituía un serio problema para su solución inmediata, por la complejidad del proceso (3). En Cuba, se han desarrollado numerosas investigaciones científicas que han permitido profundizar con un enfoque toxicológico multidisciplinario, en los aspectos toxico-epidemiológicos, fitoquímicos, bioquímicos, mecanismos de acción, fisiopatológicos etc., así como en el diagnóstico y control del cuadro clínico (4,5). Para ejemplificar la importancia y vigencia que tienen las intoxicaciones por plantas tóxicas en los rebaños animales destinados a la explotación comercial de la leche, las carnes y sus derivados, y el impacto negativo que esto conlleva en la salud animal y en la

salud de los consumidores, a través de la cadena alimentaria, se aborda en el presente trabajo a *Pteridium spp.* especie vegetal que por su alto potencial tóxico se estudia con particular atención en varios países de Latinoamérica y el mundo.

Hematuria Enzoótica Bovina (HEB)

Dentro de las entidades clínicas tóxicas atribuidas a la ingestión de *Pteridium spp* en animales de granja es la Hematuria Enzoótica Bovina (HEB) la que más profundamente se ha estudiado. Esta entidad ha sido definida como una enfermedad mortal de curso crónico que se acompaña de neoplasias malignas en la vejiga urinaria la cual se debe al consumo reiterado de helechos del Género *Pteridium*, contenido del compuesto ptaquilosido (PT), por parte de los rebaños vacunos expuestos al pasto contaminado con dicha planta (6).

La HEB ha sido informada en varios países del mundo, siendo afectados varios países de Latinoamérica que abarcan variadas regiones ganaderas con geografía más bien montañosa frecuentemente asociada a selvas tropicales del sur y centro América, con énfasis en zonas andinas (7,8). En otras latitudes, como en las Islas Azores, Portugal, también existen reportes de la alta incidencia de la HEB (9). La magnitud del problema de la gran distribución de la planta tóxica asociada a la HEB, en esas regiones, representa serias afectaciones al desarrollo de la ganadería vacuna en tanto también tiene alcance a los consumidores en la cadena alimentaria. Se señala que para prevenir las pérdidas económicas muchos campesinos envían a los animales con esta condición al sacrificio antes de que se produzca el rápido deterioro de estos. De ahí que la problemática existente es muy preocupante no solo en términos de la salud del rebaño sino que detrás de ello están en riesgo los consumidores al ingerir los productos alimenticios que forman parte de la dieta básica de la población contaminada con el PT (10,11). Aparejado a esta problemática también se señala el consumo directo de *Pteridium aquilinum* (bracken-fern) como fuente de alimento lo que está asociado con alta incidencia de cáncer gástrico en el hombre (12).

Potencial tóxico de *Pteridium spp.*

Pteridium aquilinum, *Pteridium arachnoideum* (helecho común; «bracken fern») es considerada una planta tóxica global no solo por su amplia distribución geográfica, sino también por las intoxicaciones que produce en varias regiones ganaderas del orbe, en particular las ocasionadas por su potencial carcinogénico tanto en animales como en el hombre (13,14,15). *P aquilinum* es un helecho ancestral ampliamente distribuido y se señala que resulta una de las 5 plantas más comunes

del planeta. Algunos autores lo consideran como uno de los mejores ejemplos de la respuesta del reino vegetal al uso inadecuado de la tierra por parte del hombre. Se considera la única planta superior causante directa de cáncer en los animales de granja, de forma natural la que se ha transformado en la maleza más importante del mundo, no sólo por su distribución sino también por lo difícil de su erradicación (16, 17). Se ha demostrado experimentalmente que es capaz de producir lesiones neoplásicas malignas en diversos tejidos de mamíferos de forma experimental (18, 19). Se identificó al glucósido norsesquiterpeno ptaquilósido (PT) como el metabolito secundario más relevante desde el punto de vista tóxico en *Pteridium spp.* (20). Este compuesto es el responsable de causar, no solo carcinogénesis, sino también la degeneración de la retina, en ovinos y la aplasia mieloide, en bovinos (21). Su concentración en la planta puede resultar elevada de ahí que se reportan niveles de PT en concentraciones de $13,000 \mu\text{g g}^{-1}$ (ppm), (18). Otros autores han reportado incluso valores superiores de hasta PT $14,703.2 \mu\text{g g}^{-1}$ (3). Todo lo cual se informa que está influenciado por factores ambientales (22). Bajo condiciones de alcalinidad la pérdida de la glucosa da lugar a la formación de una dienona intermediaria la cual posee un anillo ciclopropilo altamente reactivo capaz de reaccionar con macromoléculas celulares (23). Ha sido demostrado el efecto de mutagenicidad, clastogenicidad, teratogenicidad y carcinogenicidad del PT. Este compuesto es capaz de alquilar adeninas en el ADN preferentemente en el surco menor en las secuencias 5'-TAG y 3'-A in 5'-AA-3'. También alquila guaninas en N7 en el surco mayor del ADN ocurriendo en 5'-TG. También se evidencia que estas alquilaciones conllevan a la reparación de errores o mellas en la secuencia del ADN y subsecuentemente conllevan a mutaciones en proto-oncogenes específicos (24). Está establecido un modelo experimental de carcinogénesis donde se induce cáncer mamario y múltiples tumores en el ileum al administrar por vía oral el ptaquilósido a ratas hembras Sprague-Dawley (25). Evidencias epidemiológicas indican la presencia de cáncer en las poblaciones en riesgo, a través del consumo directo de la planta en la dieta o a través del consumo de leche y carnes de rebaños que padecen HEB (26). Existen también trabajos que evidencian la asociación entre la intoxicación crónica por *P. aquilinum*, la infección por virus del papiloma y el desarrollo de carcinomas, poniendo de manifiesto un efecto inmunosupresor por parte del PT presente en la planta, lo que a su vez sería un factor que agravaría el proceso carcinogénico (27). En la práctica veterinaria se insiste más en el diagnóstico clínico de los animales portadores de hematuria por lo que con frecuencia

no se diagnostica la HEB a toda la masa del rebaño potencialmente intoxicado ya que estos animales pueden pasar un largo tiempo asintomáticos hasta hacer evidente la sangre en orina (hematuria) causada por las tumoraciones vesicales. De lo anterior se desprende que un aspecto importante en el que hay que incidir es en el diagnóstico precoz de los animales expuestos al consumo reiterado de *Pteridium spp.*, con o sin clínica aparente de HEB. El uso de tiras reactivas diagnósticas ha sido reportado de mucha utilidad cuando se quiere detectar sangre oculta en orina para poder establecer la real magnitud del proceso de HEB en la totalidad del rebaño en riesgo (28, 29). El desarrollo de métodos avanzados de detección del PT en forma de pterosina B, su forma estable, resulta también importante porque de esta forma es factible determinar los residuos del tóxico en la leche y carnes de los animales clínicamente enfermos o en fase subclínica, lo que permite poder realizar investigaciones epidemiológicas del riesgo a que está expuesta la población y en consecuencia tomar las medidas pertinentes en cuanto a garantizar la seguridad alimentaria al consumidor (30, 31).

HEB y su relación con el cáncer gástrico en humanos

Un estudio epidemiológico realizado en Costa Rica a mediados de los años ochenta evidenció una alta prevalencia de cáncer gástrico en las Américas siendo una de las más altas del mundo debido a etiologías no totalmente esclarecidas (32). La exportación de carne bovina es una importante industria en ese país. El sobrepastoreo resulta relativamente frecuente creándose condiciones favorables para que los helechos presentes se tornen invasivos especialmente en zonas de la cordillera central donde existen condiciones climáticas favorables para el desarrollo de esta planta. La investigación logró visualizar la relación existente entre las zonas de pastos invadidas por el helecho, la existencia de HEB y la distribución de cáncer gástrico en humanos. El multifactorial origen del cáncer gástrico involucra factores ambientales muchos de ellos asociados a la dieta. Dado que el ptaquilósido se ha determinado en la leche de vacas intoxicadas (33, 34) y en el subsuelo y aguas subterráneas (35) estos constituyen factores importantes que hay que tener presentes. Otro aspecto sería la inhalación de las esporas directamente del helecho. Más recientemente la genotoxicidad de *P. aquilinum* (ptaquilósido) fue estudiada *in vitro* en células epiteliales humanas todo lo cual demostró una vez más la participación del ptaquilósido en provocar daño al ADN, desregulación de la expresión genética y de los mecanismos de señalización, así como fallos en los mecanismos de la

reparación del ADN. En un modelo murino la administración oral de extracto de *P. aquilinum* incrementó la proliferación de las células gástricas con cambios en el intrón 2 del gen P53. Todo lo cual se traduce en daños directos al ADN y efectos mutagénicos (36). De ahí que se insiste en la determinación del ptaquilósido en leche en zonas ganaderas afectadas de HEB dado el riesgo potencial de cáncer gástrico a que están expuestos los consumidores, en particular aquellos de los asentamientos rurales que permanecen de forma estable en esas regiones (33, 34). Dado que la HEB es una intoxicación que cursa de forma crónica y la hematuria como signo clínico se manifiesta de forma intermitente, pueden coexistir en el rebaño afectado un número de animales aun asintomáticos en los inicios de la intoxicación lo que también ha demandado mejoras en el diagnóstico activo de la entidad para la determinación de sangre oculta en orina que permita la toma de medidas oportunas. La relación existente entre el consumo de leche contaminada con PT y el cáncer gástrico ha sido bien establecida de ahí la potencialidad tóxica en la cadena alimentaria.

HEB en Latinoamérica

Varios son los países latinoamericanos que han reportado e investigado la HEB, asociada o no al carcinoma del tracto digestivo superior en localidades ganaderas ampliamente invadidas por *Pteridium spp.* Más favorecidas aquellas zonas andinas de ambiente húmedo y cuya altitud resulta más favorable al crecimiento de los helechos. De cualquier forma la HEB resulta la entidad más relevante y en consecuencia la más estudiada.

Se informa que en Venezuela la incidencia de HEB puede ser muy alta, especialmente en zonas montañosas productoras de ganado. En los Andes Merideños, hay zonas como la de Santo Domingo, en que el 18% de los rebaños muestran HEB (8, 37). Se destaca, por otra parte, que hay fincas en el Distrito Campo Elías del Estado Mérida, que acusan un 80% del ganado afectado. Se señala que los demás estados Andinos se ven igualmente afectados. En Venezuela se señala que la incidencia de HEB disminuye drásticamente en las fincas de los llanos y planicies, de la costa del lago de Maracaibo. Los demás estados andinos del país se ven igualmente afectados, así como en otras zonas de producción de altura. (11).

En Costa Rica, país afectado por HEB, existe un estudio muy interesante realizado sobre la curva de eliminación del ptaquilósido por leche y los efectos de la cocción y de la pasteurización sobre los niveles del carcinógeno donde se encontró que el ptaquilósido estaba presente en la leche luego de 54 horas de la

ingesta del helecho tóxico *P. aquilinum* alcanzando el pico de mayor concentración a las 78 horas y disminuyendo en un 50% a las 115 horas. La pasteurización y la cocción disminuyeron los niveles de ptaquilósido en la leche en un 47% y un 74% respectivamente (12).

En la región del Chaco Húmedo en Tarija, Bolivia se estudió hace poco más de una década un cuadro clínico de toxicosis por *P. aquilinum*. En esta región se presentó coincidentemente las dos formas clínicas: Hematuria Enzoótica Bovina (HEB) y Carcinoma de las porciones superiores del tracto digestivo, lo que demostró la gravedad del caso. Las encuestas tóxico-epidemiológicas realizadas a los ganaderos, una Tasa de Incidencia entre 7,8% y 10,6%, acorde a las zonas estudiadas. El estudio patomorfológico mostró lesiones carcinomatosas de diferentes grados de malignización en la vejiga urinaria en un 100% de las necropsias, así como este mismo tipo de lesión tumoral maligna a nivel del tracto digestivo superior en el 50% de los casos necropsiados. El estudio botánico puso de manifiesto alta contaminación de *Pteridium aquilinum* en las áreas de pastoreo en más de 50%. El estudio taxonómico arrojó la presencia de variedades de *P. aquilinum* var. *arachnoideum* y *P. aquilinum* var. *caudatum*. Se sugirió además la presencia de ecotipos. Los análisis fitoquímicos indicaron altos niveles de ptaquilósido (38).

Pteridium aquilinum constituye una de las especies más importantes para Brasil, sobre todo para la región del sur del país y es la principal causa de muertes en bovinos en Santa Catarina. Un estudio retrospectivo realizado en Brasil mostró, que de los 586 casos de neoplasia examinados en necropsias practicadas a bovinos, los órganos más afectados fueron el tracto alimentario (n=139 casos), atribuido a alta incidencia de carcinoma de células escamosas de la porción superior del mismo asociado con la ingestión crónica de *Pteridium aquilinum* (bracken fern). La planta carcinogénica también estuvo asociada con relativamente alta incidencia (n=35 casos) de tumores en la vejiga urinaria (HEB), (39, 40, 41).

Otros países de la región centroamericana reportan la intoxicación por *Pteridium spp.* (42). Más recientemente en Ecuador, en la región ganadera de San Miguel, Estado de Bolívar, se realizó una investigación que informó por primera vez de la presencia de HEB en esta región Andina lo que sin dudas conllevará ampliar el estudio a otras regiones del mismo Estado y del país, todo lo cual redundaría positivamente en la toma de las medidas específicas para el control de la HEB y la disminución de los riesgos tanto en la masa vacuna como en la Salud Pública en ese país (29).

Aspectos ecotoxicológicos

Estudios llevados a cabo en Costa Rica demostraron que la concentración de ptaquilósido es mayor en el *P. aquilinum* tierno seguido por el intermedio y el adulto. También se encontró una correlación entre la altitud y la concentración del PT encontrándose niveles mayores a 1,800 msnm y menores a 1,000 msnm, y una concentración media a 1,400 msnm. La influencia de la subespecie sobre los niveles de ptaquilósido arrojó una mayor concentración en todos los estadios de crecimiento en la subespecie *Arachnoideum* que en los de la subespecie *Caudatum*. Así mismo se señala que en potreros de alturas medias (entre 600 y 1800 msnm) con suelos pobres y ácidos, en los que se hacen operaciones de limpieza mediante el fuego, y posteriormente sembrados sin mayor cuidado, estarán expuestos a un muy alto riesgo de infestación por *Pteridium aquilinum* Fincas que se establezcan sobre bosques húmedos de montaña virgen, mediante la tala y la quema de esa vegetación, ubicadas en alturas medias, se verán afectadas en pocos años por grandes masas expansivas de *Pteridium aquilinum* variedad *caudatum*, con las consecuencias antes mencionadas (43). Una vía de potencial de exposición del humano a los efectos tóxicos del PT lo constituye la inhalación de las esporas de este helecho en la época de esporulación de la planta. Ratones a los que se administró esporas en el agua de bebida desarrollaron leucemia linfática, adenocarcinomas de mama y adenocarcinomas gástricos (44). La administración de esporas incorporadas en el alimento produjo adenocarcinomas de mama (45).

Desde el punto de vista ambiental las aguas superficiales o subterráneas pueden verse contaminadas en regiones de alta densidad de población de *Pteridium spp.* todo lo cual resulta también un aspecto a considerar en los aspectos ecotoxicológicos. En un estudio el ptaquilósido resultó estable en todas las soluciones de suelos ensayadas, donde ninguna degradación fue observada dentro de un periodo de 28 días (46). Actualmente se han desarrollado nuevos métodos basados en CL-EM/EM (Cromatografía Líquida-Espectrometría de Masa/Espectrometría de Masa) que permiten la cuantificación del ptaquilósido y la pterosina B en muestras de suelo y aguas subterráneas en concentraciones medioambientales relevantes que permiten la detección estructural (47). De lo expresado se infiere la seria amenaza que existe en las regiones expuestas a la intoxicación crónica por *Pteridium aquilinum* (L.) (*Pteridium spp.*) y se alerta de las graves implicaciones que la misma representa en la producción pecuaria y la cadena alimentaria al hombre considerándose por algunos autores hoy día como un grave perjuicio biológico de estos tiempos.

CONCLUSIONES

La inocuidad de los alimentos constituye hoy día una de las mayores urgencias dentro de la cadena de acciones que precisan brindar la suficiencia alimentaria que demanda la humanidad, con énfasis en aquellos grupos poblacionales más vulnerables. En este contexto se hace imperiosa la atención priorizada a las intoxicaciones por plantas nocivas en los animales de granja, que pueden causar la excreción y acumulación de sustancias dañinas en la leche, la carne y derivados, con serias implicaciones sanitarias en la Salud Pública. Ejemplo de ello es la intoxicación por *Pteridium spp.* (bracken fern) que abordamos en el presente trabajo que dado su alcance planta-animal-hombre-ambiente, queda aún un espacio por investigar con énfasis en las medidas de control orientadas a minimizar los riesgos a que está expuesta la masa animal de contraer la HEB por la ingesta reiterada de esta planta y en consecuencia la presencia del tóxico ptaquilósido cancerígeno en la leche, con afectación potencial en los consumidores de padecer cáncer gástrico. Cualquier acción tendiente en esta dirección de la inocuidad alimentaria valdría la pena.

REFERENCIAS

1. Betz JM, Page SW: Perspectives on Plant Toxicology and Public Health. Chapter 73. Toxic Plants and Natural Toxicants. Edited by Tam Garland and Catherine Barr, UK. 1998;367-371.
2. Marrero Faz Evangelina. Plantas Tropicales Medicinales y Tóxicas: Efectos Farmacológicos Experimentales & Toxicosis en Animales. Tesis en Opción al Título de Doctor en Ciencias, Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria, Universidad Agraria de la Habana, Ministerio de Educación Superior, Cuba. 2008.
3. Marrero E, Bulnes C. Sánchez LM, Palenzuela I, Stuart R, Jacobs F, Romero J. Chronic Toxicity in cattle due to *Pteridium aquilinum* (Bracken Fern) in Tarija Department, Bolivia. An Interdisciplinary Investigation. In: Toxic plants and other Natural toxicants, CABI Publishing UK, Chapter 37; 2004:248-252.
4. Roig y Mesa JT. Plantas Medicinales, Aromáticas o Venenosas de Cuba, Ed. Ciencia y Técnica, Instituto del Libro, Cuba, (1974).
5. Marrero E, Goicochea CB, Perera LMS, Páez IP. Toxic Plants of Cuba. In: Poisoning by Plants, Mycotoxins, and Related Toxins. Eds. F Riet- Correa, J. Pfister, AL Schild, TL Wierenga. CAB International. Chapter 4. 2011;43-49.

6. Fletcher MT, Brock IJ, Reichmann KG, McKenzie RA, Blaney BJ. Norsesquiterpene glycosides in bracken ferns (*Pteridium esculentum* and *Pteridium aquilinum* subsp. *wightianum*) from Eastern Australia: reassessed poisoning risk to animals. *J Agric Food Chem.* 2011;59(9):5133-5138.
7. Riet-Correa F, Medeiros R, Pfister J, Schild AL, Dantas A. Poisonings by plants, mycotoxins and related substances in Brazilian Livestock. 2009. Ed. Sociedade Vicente Pallotti, Patos, Brazil.
8. Alonso-Amelot ME, Avendaño M. Human carcinogenesis and bracken fern: a review of the evidence. *Curr Med Chem.* 2002;9(6):675-686.
9. Almeida Santos Mde F, Dorea JG, Luna, H. Bracken-fern extracts can be clastogenic or aneugenic depending on the tissue cell assay. *Food Chem Toxicol.* 2006;44(11):1845-1848.
10. Alonso-Amelot ME. The link between bracken fern and stomach cancer: milk. *Nutrition.* 1997;13(7-8): 694-696.
11. De Jongh F. Ocurrencia y diagnóstico histopatológico de la hematuria vesical clínica en bovinos de la zona alta del Estado Mérida. programa para el desarrollo de la ganadería lechera en las zonas altas de la región de Los Andes. Convenio ULA-Corpoandes-UCV. 1978; Boletín no. 10, 25 pp.
12. Salazar JA, Meneses JL, Rojas J, Mora RE, Herrero M. Bracken derived carcinogens as affecting animal and human health in Costa Rica. En: Bracken toxicity and carcinogenicity as related to animal and human health. Spec. Publ. Int. Bracken Group. Geography Dep. Univ. College N. Wales, Aberystwyth, Wales. UK 1989.
13. Smith BL. The Toxicity of Bracken Fern (genus *Pteridium*) to Animals and its Relevance to Man. Handbook of Plant and Fungal Toxicants. Edited Felix D'Mello JP, by CRC Press. Inc. 1997;63-76.
14. Villalobos-Salazar J, Hernandez H, Meneses A, Salazar G. In Bracken: Toxicity, Biology and Control. Taylor JA, Smith RT. (eds.). International Bracken Group. Manchester, UK. 2000;68.
15. Vetter J. A biological hazard of our age: bracken fern *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn- a review. *Acta Vet Hung.* 2009;57(1):183-196.
16. Marrs-RH, Pakeman RI, Duc MG, Paterson S. Bracken invasion in Scotland. *Bot J Scot.* 1997;49(2):347-356.
17. Thomson JA, Willoughby C, Shearer CM. In Bracken: Ecology, Land Use and Control Technology. RT. Smith, JA. Taylor (eds.). Parthenon Press, Carnforth, UK. 1986;109-119.
18. Shahin M, Smith BL, Prakash AS. Bracken carcinogens in the human diet. Review. *Mutat Res.* 1999;443(1-2):69-79.
19. Abnet CC. Carcinogenic food contaminants. *Cancer Invest.* 2007; 25(3):189-196.
20. Smith BL, Seawright AA, Ng JC, Hertle AT, Thomson JA, Bostock PD. Concentration of ptaquiloside, a major carcinogen in bracken fern (*Pteridium* spp.), from eastern Australia and from a cultivated worldwide collection held in Sydney, Australia. *Nat Tox.* 1994;2(6):347-53.
21. Yamada K, Ojika M, Kigoshi H. Ptaquiloside, the major toxin of bracken, and related terpene glycosides: chemistry, biology and ecology. *Nat Prod Rep.* 2007;24(4):798-813.
22. Rasmussen L, Lauren D, Smith B, Hansen H. Variation in ptaquiloside content In bracken (*Pteridium esculentum* (Forst. f) Cockayne) in New Zealand. *N Z Vet J.* 2008;56(6):304-309.
23. Pereira LO, Bicalho LS, Campos-da-Paz Lopes, M de Sousa TM, Bao SN, de Fatima Menezes Almeida Santos, et al. DNA damage and apoptosis induced by *Pteridium aquilinum* aqueous extract in the oral cell lines HSG and OSCC-3. *J Oral Pathol Med.* 2009;38(5):441-447.
24. Gomes J, Magalhaes A, Michel V, Amado IF, Aranha P, Ovesen RG, et al. Pteridium aquilinum and Its Ptaquiloside Toxin Induce DNA Damage Response in Gastric Epithelial Cells, a Link With Gastric Carcinogenesis. *Toxicol Sci.* 2012;126(1): 60-71.
25. Hirono S, Aiso T, Yamaji H, Mori K, Yamada H, Niwa M, et al. Carcinogenicity in rats of ptaquiloside isolated from bracken. *Gann.* 1984;75(10):833-836.
26. Villalobos-Salazar JA, Meneses JL, Rojas J, Mora RE, Herrero M. Bracken derived carcinogens as affecting animal and human health in Costa Rica. En: Taylor, JA. (comp). Bracken toxicity and carcinogenicity as related to animal and human health. Spec. Publ. Int. Bracken Group. Geography Dep. Unive. College N. Wales, Aberystwyth, Wales. UK. 1989.
27. Latorre O, Furlan MS, Sakai M, Fukumasu H, Hueza IM, Haraguchi M, et al. Immunomodulatory effects of *Pteridium aquilinum* on natural killer cell activity and select aspects of the cellular immune response of mice. *J Immunotoxicol.* 2009;6(2):104-114.

28. Villalobos A, Arraga de ACM, Villarroel-Neri R. Validez, seguridad y cociente de verosimilitud de los métodos tiras reactivas para orina y examen microscópico del sedimento urinario en el diagnóstico de hematuria Enzoótica bovina. *Rev C Maracaibo*. 2006;16(6):604-612.
29. Calderón Tobar Ángela, Evangelina Marrero Faz, Murillo V, Vega V. Reporte de casos de hematuria enzoótica bovina por ingestión de *Pteridium arachnoideum* en la región ganadera de San Miguel de Bolívar, Provincia Bolívar, Ecuador. *Rev Salud Anim*. 2011;33(3):197-202.
30. Fletcher MT, Reichmann KG, Brock IJ, McKenzie RA, Blaney BJ. Residue potential of norsesquiterpene glycosides in tissues of cattle fed Austral bracken (*Pteridium esculentum*). *J Agric Food Chem*. 2011;59(15): 8518-8523.
31. Jensen PH, Jacobsen OS, Hansen HC, Juhler RK. Quantification of ptaquiloside and pterosin B in soil and groundwater using liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS). *J Agric Food Chem*. 2008; 56(21):9848-54.
32. Villalobos L. Carcinogenicidad del *Pteridium aquilinum* y alta incidencia del cáncer gástrico en Costa Rica. *Rev Cost Cienc Med*. 1985;6:131-139.
33. Alonso Amelot ME, Castillo U, Smith BL, Lauren, DR. Excretion through milk of ptaquiloside in bracken fed cows. A quantitative assessment. *Lait*. 1998;78(4):413-423.
34. Alonso-Amelot ME, Castillo U, Smith BL, Lauren DR. Bracken ptaquiloside in milk. *Nature*. 1996;382(6592):58.
35. Rasmussen LH, Kroghsbo S, Frisvad JC, Hansen HC. Occurrence of the carcinogenic Bracken constituent ptaquiloside in fronds, topsoils and organic soil layers in Denmark. *Chemosphere*. 2003, 518(2): 117-127.
36. Gil da Costa RM, Oliveira PA, Vilanova M, Bastos MM, Lopes CC, Lopes C. Ptaquiloside-induced, B-cell lymphoproliferative and early-stage urothelial lesions in mice. *Toxicol*. 2011;58(6-7):543-549.
37. Alonso-Amelot ME. Helecho macho, salud animal y salud humana. *Rev Fac Agron. (LUZ)*. 1999;16:528-54.
38. Marrero E, Bulnes C, Sanchez LM, Palenzuela I, Stuart R, Jacobs F, et al. *Pteridium aquilinum* (Bracken Fern) Toxicity in Cattle in the Humis Chaco of Tarija, Bolivia. *Vet Hum Toxicol*. 2001;43:156-158.
39. Antoniassi NAB, Raymundo DL, Boabaid FM, Juffo GD, Bandarra PM, Pedroso CEF da Cruz, et al. Poisonous Plants, Affecting Ruminants in Southern Brazil. In: *Poisonous Plants and Related Toxins*, eds. F Riet-Correa, J Pfister, AL Schild, and TL Wierenga. CAB International, Chapter 10, 2011;87-90.
40. Gava A. da Silva, Neves D, Gava D, de Moura ST, Schild AL, Riet-Correa F. Bracken fern (*Pteridium aquilinum*) poisoning in cattle in southern Brazil. *Vet Hum Toxicol*. 2002;44(6):362-365.
41. Lucena RB, Rissi DR, Kommers GD, Pierezan F, Oliveira-Filho JC, Macedo JT, et al. A retrospective study of 586 tumours in Brazilian cattle. *J Comp Pathol*. 2011;145(1):10-24.
42. Armien AG, Peixoto PV, Tokarnia CH. Poisonous Plants Affecting Livestock in Central America with Emphasis in Panama. In: *Poisonous Plants and Related Toxins*, eds F Riet-Correa, J Pfister, AL Schild, and TL Wierenga. CAB International, Chapter 6, 2011;60-67.
43. Villalobos-Salazar J, Hernández H, Salazar G, Meneses A. Influence of maturation stage and altitude on the levels of Ptaquiloside in bracken fern (*Pteridium aquilinum*) in Costa Rica. En: *Proceedings of the IV International Bracken Conference*, Manchester, July 20-23rd 2000.
44. Marliere CA, Wathern P, Castro MC, O'Connor P, Galvao MA. Bracken fern (*Pteridium aquilinum*) ingestion and oesophageal and stomach cancer. *IARC Sci Publ*. 2002;156:379-380.
45. Gomes J, Magalhaes A, Michel V, Amado IF, Aranha P, Ovesen RG, et al. *Pteridium aquilinum* and Its Ptaquiloside Toxin Induce DNA Damage Response in Gastric Epithelial Cells, a Link With Gastric Carcinogenesis. *Toxicol Sci*. 2012;126(1): 60-71.
46. Ovesen RG, Rasmussen LH, Hansen HC. Degradation kinetics of ptaquiloside in soil and soil solution. *Environ Toxicol Chem*. 2008;27(2):252-259.
47. Bonadies F, Borzacchiello G, Dezzi S, Nicoletti R, Roberto S. Mass spectrometric analysis of ptaquiloside, the toxic sesquiterpene from bracken fern. *Rapid Commun Mass Spectrom*. 2004;18(7):825-828.

Recibido: 20-5-2012.

Aceptado: 12-10-2012.