

**Szent István Universität  
Veterinärmedizinische Fakultät  
Lehrstuhl für Botanik**

**Pteridium aquilinum: Die wichtigste Farnpflanze der Welt  
Pteridium aquilinum: The most important fern in the world**

**Gideon Möllney**

**Konsulent: Professor János Vetter, Lehrstuhl für Botanik**

**2011**

## Inhaltsverzeichnis

- 1. Einleitung**
- 2. Adlerfarn**
  - 2.1. Botanische Aspekte**
    - 2.1.1. Taxonomie
    - 2.1.2. Morphologie
    - 2.1.3. Wachstum und Fortpflanzung
    - 2.1.4. Verbreitung
    - 2.1.5. Ehemalige und derzeitige Verwendung
  - 2.2. Chemische Bestandteile**
    - 2.2.1. Stoffe
    - 2.2.2. Vorkommen
    - 2.2.3. Nachweisverfahren
  - 2.3. Veterinärmedizinische Aspekte**
    - 2.3.1. Wiederkäuer
      - 2.3.1.1. Rind
        - *Bovine enzootische Hämaturie*
        - *Karzinom im oberen Darmtrakt*
        - *Akut hämorrhagisches Syndrom*
      - 2.3.1.2. Kleine Wiederkäuer
        - *Retinale Atrophie*
    - 2.3.2. Nicht- Wiederkäuer
      - 2.3.2.1. Pferd
        - *Thiamin Mangelerscheinungen*
      - 2.3.2.2. Schwein
      - 2.3.2.3. Maus
      - 2.3.2.4. Meerschweinchen
      - 2.3.2.5. Ratte
      - 2.3.2.6. Kaninchen
  - 2.4. Humanmedizinische Aspekte**
    - 2.4.1. Adlerfarn als direktes Nahrungsmittel
    - 2.4.2. Konsum des Adlerfarns im indirekten Weg
    - 2.4.3. Verbindung zwischen Tier und Mensch
  - 2.5. Mögliche Behandlungsformen**
- 3. Zusammenfassung**
- 4. Abstract**
- 5. Abbildungsverzeichnis**
- 6. Literaturverzeichnis**

## 1. Einleitung

*Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn, der Adlerfarn, ist eine der weltweit am häufigsten auftretenden Pflanzenarten und wurde trotz ihrer seit dem 19ten Jahrhundert bekannten schädlichen Wirkung in Nutztieren von Menschen weitreichend als Nahrungsquelle verwendet. Die toxische Wirkung des Adlerfarns ist sehr komplex, da zahlreiche Substanzen bei pathologischen Veränderungen in Nutztieren eine Rolle spielen und damit verbunden eine große Gefahr für Menschen darstellen. Daher sind speziell die karzinogenen Prinzipien sowohl für die Veterinärmedizin als auch für die Humanmedizin von großer Bedeutung. Im Rind verursacht die chronische Aussetzung zum Adlerfarn und die daraus resultierende Vergiftung die Entstehung von Tumoren des Urothels und Mesenchyms in der Harnblase und neoplastischen Läsionen im oberen Darmtrakt. Die damit verbundene Übertragung auf den Menschen per Milchkonsum schafft die Verbindung zwischen Tier und Mensch. Zwei weitere Kontaktmöglichkeiten mit Adlerfarn entstehen bei physikalischem Kontakt mit den Sporen oder dem direkten oralen Konsum der Pflanzen.

## 2. Adlerfarn

### 2.1. Botanische Aspekte

Der Adlerfarn hat eine hohe Bedeutung, da er eine der wenigen perennierenden Staudenarten ist, die weltweit vertreten sind.<sup>1</sup> Er ist eine sommergrüne Staudenart mit weitverzweigtem Wurzelstock.



Abb. 1.1: Adlerfarn

### 2.2.1. Taxonomie

Reich	Plantae/ Regnum Plantarum	Pflanzen
Stamm	Polypodiophyta/ Pteridophyta	Gefäßsporenpflanzen
Klasse	Filicopsida/ Polypodiopsida	Echte Farne
Ordnung	Polypodiales	Tüpfelfarnartigen
Familie	Dennstaedtiaceae	Adlerfarngewächse
Gattung	Pteridium	Adlerfarne
Art	P. aquilinum	Adlerfarn

### 2.2.2. Morphologie

Der Adlerfarn besitzt im Durchschnitt 30-180cm lange Farnwedel mit im Normalfall 3-fach, aber auch 2- bis 4-fach, gefiederten Blättern.<sup>2</sup> Ein solcher Farnwedel hat eine weiche, krautartige bis lederartige Struktur und formt in seinem Umfang ein dreieckiges Erscheinungsbild. Dessen Fiederblätter sind ausgenommen am auslaufenden Ende der Blattspindel gegenüberliegend angeordnet, wobei die am unteren Teil positionierten Blätter im Gegensatz zu den oberen einen gestielten Charakter haben.<sup>3</sup> An dem Blattgrund eines jeden Fiederblattes liegen die Saftdrüsen (Nektarium), welche nur im frühen Entwicklungsstadium aktiv vorzufinden sind. Es ist zu vermuten, dass sie mit ihrem Produkt reich an Stärke Ameisen anlocken, sodass diese den Farn ungenießbar für Herbivoren machen oder vor Angriffen von anderen Insekten schützen.<sup>4</sup> Der eigentliche Stängel eines Wedels hat die gleiche Länge wie seine Blattspreite und einen Durchmesser von ca. 1cm. Er ist schwarz, halbzylinderförmig, am unteren Teil erst behaart und dann unbehaart auslaufend. Die Spreite ist Delta ähnlich geformt, ist ausgenommen fertiler Segmente frei von Nervatur und ihre von der Mittelrippe ausgehenden Fiederblättchen haben lanzenartige bis längliche Struktur. An der Unterseite dieser Farnblätter verlaufen die von dem Indusium geschützten Sori, welche Gruppen von Sporangien beinhalten und für die Produktion von Sporen verantwortlich sind.<sup>5</sup> Der Wurzelstock, das Rhizom, ist ein im Erdboden bis zu 0,5m tief stark verzweigtes Sprossachsensystem mit filzigem Charakter und besitzt keine Schuppen.<sup>6</sup>

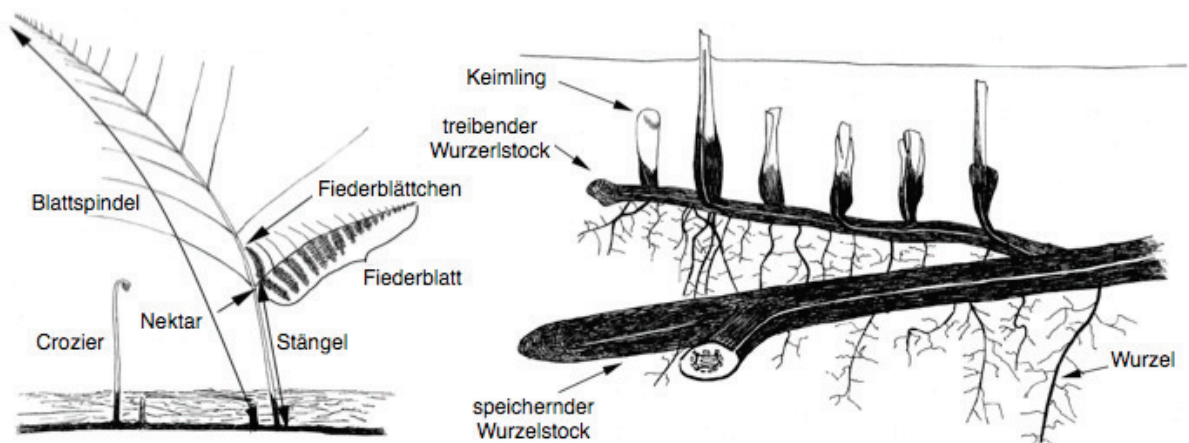


Abb. 1.2.: Farnwedel, Crozier und Wurzelstock

### 2.2.3. Wachstum und Fortpflanzung

Der Adlerfarn ist eine sehr schnell wachsende Pflanze und ihre Farnwedel erreichen ihre maximale Länge in nur wenigen Monaten, wobei es sich um mehrere Zentimeter in der ersten Wachstumsphase handeln kann.<sup>7</sup>

Seine effizienteste Art und Weise der Verbreitung ist nicht die Bildung von Sporen, sondern die Nutzung seines weitreichenden Wurzelstocksystems. Die so am weitesten entfernten Wurzeln können bis zu 75 Jahre alt sein.<sup>8</sup> Dies ist gegeben durch die hohe Anzahl an Keimlingen, die im Bereich des Rhizoms liegen. Nur 20% jedoch sind in aktiver Phase vorzufinden. Diese so genannten Ruheknospen sind oftmals bis zu 10 Jahre alt und könnten die Grundlage für die so einnehmende Verbreitung dieser Pflanzenart sein.<sup>9</sup> Die geographische Verbreitung eines Klons, entstanden aus einem rhizomären Keimling, wies Untersuchungen nach eine Reichweite von bis zu 390m auf.<sup>10</sup>

Außerdem wird die Aktivität der Keimlinge durch das Schneiden, Roden und der Behandlung mit Stickstoff/Phosphor-Nährstoffen nur noch weiter erhöht, weshalb es durch Bekämpfungsmaßnahmen oft nur zur weiteren Ausbreitung kommt.<sup>11</sup>

Trotz dieser besonderen Art der Fortpflanzung über Rhizome besitzt der Adlerfarn eine sehr hohe genetische Variabilität. Gründe hierfür können auf verschiedene

Mechanismen zurückzuführen sein, wie Gen-Austausche zwischen unterschiedlichen Populationen, homologe Gen-Paarungen oder chromosomale Cross-over während der Meiose bei der Bildung von Sporen.<sup>12</sup>

Das Ausmaß der Sporulation als solches ist abhängig vom Energie-Haushalt zum Zeitpunkt ihrer Initiierung durch erhöhte Sonneneinstrahlung und Temperaturexposition im Hochsommer – Sporulation ist dann regulär Anfang Herbst.<sup>13</sup>

Die Dauer der Entwicklung vom Keimling zur sporulierten Blattspindel benötigt ca. 3 Jahre.<sup>14</sup>

#### **2.2.4. Verbreitung**

Der Adlerfarn ist eine der weitverbreitetsten Pflanzen auf der Welt. Ausgenommen sehr heiße und kalte Wüsten ist der Adlerfarn in jeglicher Vegetation in der ganzen Welt vertreten. Hierbei kann man im Allgemeinen zwischen der in nördlicher Hemisphäre vorkommenden Unterart *aquilinum* und der in der südlichen Hemisphäre vorliegenden Unterart *caudatum* unterscheiden.<sup>15</sup> Er ist eine sehr invasive Art und dominiert vorliegend Waldböden an Standpunkten mit Öffnungen der Baumbeschirmung. Des Weiteren besiedelt er häufig Waldwiesen, frisch gerodete oder verbrannte Felder, Wanderwege und forstwirtschaftlich genutzte Flächen.<sup>16</sup>

Speziell zu Ungunsten der eigentlichen Nutzung sind auch agrarwirtschaftlich genutzte Landzonen von der Ansiedlung des Adlerfarns betroffen. Daran ist zu erkennen, dass der Mensch einen enormen Einfluss auf dessen Ausbreitung hat, da diese künstlich erschaffenen Umstände perfekte abiotische Faktoren für den Adlerfarn bereitstellen.<sup>17</sup>

Gründe für die Verbreitung:<sup>18</sup>

- Großer Wurzelstock mit enormem Potential zur Nährstoff-Speicherung
- Hohe Anzahl von Keimlingen
- Die hohe Produktivität bewirkt ein dichtes Netz aus Farnwedeln, welche 94% des Sonnenlichts absorbieren und so das Wachstum anderer Arten verhindern
- Erhöhte Produktivität durch Ansammlung von Waldlaub und dessen Eigenschaften der Isolierung
- Toxische Stoffe als Abwehrmechanismus vermeiden einen Verzehr durch andere Organismen

Neben den oben genannten Gründen hat der Adlerfarn auch eine starke Auswirkung auf Pflanzenarten in der Umgebung, da er große Mengen an Wasser für den Eigenbedarf beansprucht.<sup>19</sup>

Zur Bekämpfung des Adlerfarns ist es von größter Bedeutung, den richtigen Zeitpunkt abzugreifen. Dieser ist im Sommer, direkt nachdem die neuen Farnwedel komplett herangereift sind und das Rhizom dadurch in einer Phase der geringsten Speicherung von Stärke ist. Die Behandlung sollte dann mehr als einmal erfolgen.<sup>20</sup>

### **2.1.5. Ehemalige und derzeitige Verwendung**

In Europa wurde der Adlerfarn hauptsächlich in Zeiten von Lebensmittelknappheit verzehrt, indem die Wurzeln zu Mehl verarbeitet wurden. Die Farnwedel hingegen wurden für verschiedene handwerkliche Tätigkeiten genutzt.<sup>21</sup> Im Mittelalter erlangte der Adlerfarn dermaßen an Bedeutung, dass mit ihm sogar Rechnungen beglichen wurden.<sup>22</sup>

In Neuseeland, Australien und Nord-Amerika benutzten die aus Europa einreisenden Siedler den Farn sogar als tägliches Nahrungsmittel.<sup>23</sup>

Japan, Korea und Teile Süd-Amerikas gehören zu den Ländern, in denen heute noch viele Speisen aus Adlerfarn gewonnen werden und dieser sogar speziell in Japan als Produkt aus agrarwirtschaftlicher Herkunft Bedeutung trägt.<sup>24</sup>

Im Sinne der traditionellen Medizin ist die Pflanze nachweislich ein Mittel zur Abwehr von Darmparasiten. Außerdem wird ihr eine heilende Wirkung bei Wunden zugesprochen und Linderung bei Obstipation.<sup>25</sup>

Dennoch ist der Adlerfarn auf Grund seiner toxischen Eigenschaften in den meisten kultivierten Ländern als Nahrungsmittel verboten und wird als Unkraut angesehen.

## 2.2. Chemische Bestandteile

### 2.2.1. Stoffe

#### Cyanogene Glykoside

Cyanogene Glykoside dienen der Pflanze als Abwehrmechanismus gegen den Verzehr durch Herbivoren oder Insekten. Es ist hauptsächlich die Rede von dem Stoff Prunasin (Abbildung 2). Nachforschungen zu Folge ist dieser Stoff mehr in Pflanzenkulturen aus Schattengebieten vorzufinden als in Kulturen aus weiten Feldern. Er besitzt einen bitteren Geschmack und vermindert so den Konsum seitens Herbivoren.<sup>26</sup> Ein akut mortaler Vorfall durch Cyanogenese, die Abspaltung von Glukose mit toxischer Blausäure (HCN) als Nebenprodukt, im Metabolismus von Herbivoren ist jedoch nicht bekannt. Die metabolische Auswirkung von Cyanogenese bei Insekten hingegen ist von größerer Bedeutung. Prunasin hat einen negativen Einfluss auf die Ausbreitung von Insekten und ist erkennbar durch höhere Mortalitäts- und niedrigere Wachstumsraten der Larven bei Konsum von Adlerfarnmaterial.<sup>27</sup>

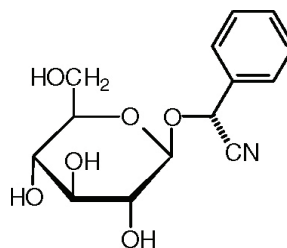


Abb. 2: Strukturformel von Prunasin



### Flavonole und andere Glykoside

Über 17 verschiedene Stoffe wurden bereits festgestellt. Unter anderem Stoffe wie Quercitin, Quercitrin, Rhamnetin und Kaempferol konnten isoliert werden. Sie haben höchst unterschiedliche Rollen bei der Bekämpfung von Insekten. Einige stimulieren einen Reiz zur größeren Futteraufnahme und wieder andere wirken abweisend und verringern das Wachstum der Larven.<sup>28</sup>

### Flavonoide

Flavonoide wie Kaempferol, Apigenin und Quercetin sind rote und gelbe Pigmente. Speziell Kaempferol und Quercetin sind Aglykone, die durch den Austausch der Glykosylgruppe mit einem Wasserstoffatom aus Flavonol Glykosiden entstehen.<sup>29</sup> Flavonoide haben keinen Abschreckungseffekt gegen Herbivoren, jedoch antimikrobielle Wirkung.<sup>30</sup> Untersuchungen zu Folge besitzt Quercetin einen mutagenen Einfluss auf *Salmonella typhimurium*, eine karzinogene Rolle in Ratten und dient als Immunschwächung synergistisch mit dem BPV-4 zur Entstehung eines Karzinoms.<sup>31 32</sup>

### Thiaminase

Das Enzym Thiaminase ist speziell im Wurzelstock und im jungen, noch eingerollten Farnblatt (Crozier) in höheren Raten vorliegend und ist ein sehr großes und im Aufbau kompliziertes Enzym, welches den Aufbruch von Thiamin (Abbildung 3), auch Vitamin B1 genannt, bewirkt. Bei hoher Dosierung kann es daher zu Vitamin-B1-Mangelerscheinungen (beri beri) in monogastrischen Lebewesen führen.<sup>33</sup> Zu seiner Funktion benötigt das Enzym Co-Substrate wie Koffeinsäure, Astragalin, Isoquercetin und 5-o-Kaffeoylshikiminsäure.<sup>34</sup>

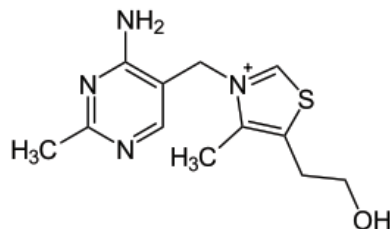


Abb. 3: Thiamin

### Illudane (Ptaquiloside und ptaquilosid-ähnliche Stoffe)

Neben ptaquilosid-ähnlichen Stoffen wie Iso-ptaquilosid, Caudatosid und Ptaquilosid Z ist Ptaquilosid ein instabiles nor-sesquiterpenoid Glykosid, die wichtigste toxische und allelopathische Verbindung der Adlerfarngewächse.<sup>35</sup> Zu finden sind sie in keiner anderen Pflanzengruppe außerhalb der Farnarten. Genaugenommen ist Ptaquilosid akut toxisch, klastogen, karzinogen und zytotoxisch und ist zu über 50% der Grund für die karzinogene Eigenschaft der Pflanze.<sup>36</sup> Ihre Konzentration in der Pflanze ist im Frühling am höchsten, da zu dieser Zeit die jungen Croziers zum charakteristischen Geigenkopf heranreifen und genau dieses junge Material der Pflanze große Mengen an Ptaquilosiden in sich trägt. Im Wurzelstock ist der Stoff Ptaquilosid nicht zu finden. Es ist ein in wässriger Lösung instabiler Stoff, der in stabileren Formen als Indan-1-on Derivate wie Pterosin vorkommt. Das weit verbreitetste Pterosin dieser Ptaquilosid-ähnlichen Stoffe ist Pterosin B. Viele Pterosine (speziell Pterosin F, ein Pterosin mit Chlor-Verbindung) besitzen zytotoxische und antibakterielle Eigenschaften, aber keine wirklich karzinogenen.<sup>37</sup> Weitere chlor-haltige Pterosine nebst Pterosin F sind Pterosin H und Pterosin K. Die fehlende karzinogene Wirkung beruht auf dem Verlust der Zyko-Propyl-Einheit, dessen Aufbruch die Chlor-Einheit hervorgerufen hat.

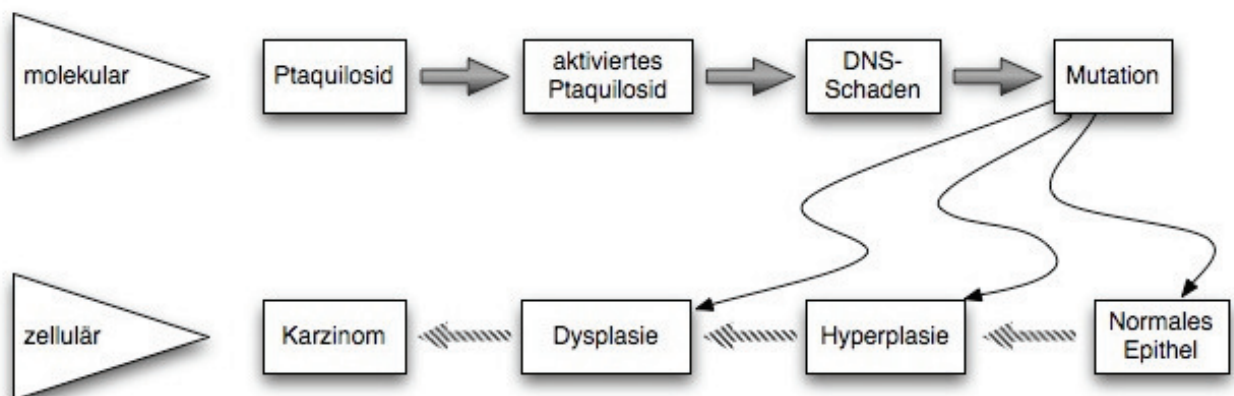


Abb. 4: Karzinogene Wirkung von Ptaquilosid

Es ist erforscht, dass Ptaquilosid die karzinogene Wirkung auf Grund seiner Zyκλο-Propyl (rot Abb.5) Einheit besitzt, da diese DNS-Ketten am Codon „AAAT“ bricht und ein so genanntes DNA-Cleavage verursacht. Ptaquilosid ist jedoch instabil in sowohl basischem als auch saurem Milieu, sodass es hydrolytisch mit Verlust des Glukosemoleküls (blau Abb.5) zu Ptaquilosin umgeformt wird. Ptaquilosin ist ein weiteres, instabiles, aber reaktives Dienone-Molekül, welches die „aktivierte“ Form von Ptaquilosid darstellt und speziell in leicht alkalischem Milieu (Ileum oder Harnblase) entsteht. Darauf folgend entsteht einerseits bei Anwesenheit von H<sub>2</sub>O Pterosin, welches keine zellschädigende Wirkung besitzt. Pterosin B aber ist die Substanz, die zur quantitativen Bestimmung von Ptaquilosiden herangezogen wird. Andererseits formt Ptaquilosin in Gegenwart von Erbmateriel mit einer Alkylierung der DNA-Substanzen einen karzinogenen Komplex, das DNA-Adduct.

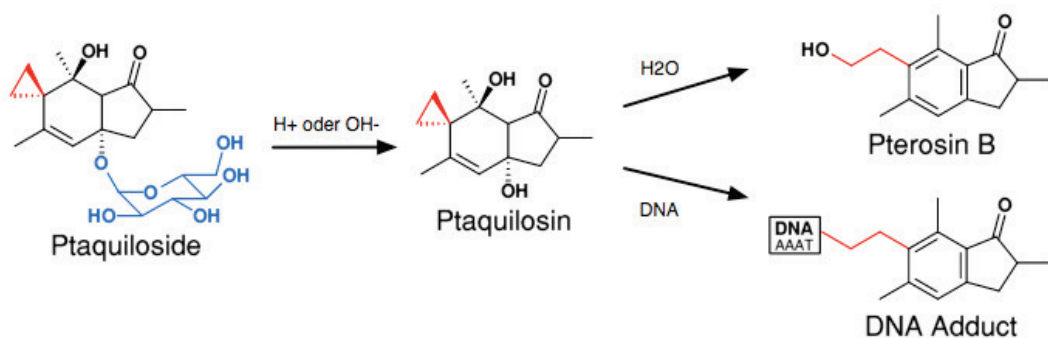


Abb. 5: Hydrolyse und Alkylierung von Ptaquilosid

Das Resultat des DNA-Adducts sind H-ras 1 Mutationen durch alkyliertes Adenin im Codon 61, sodass Transformationen von Adenin zu Guanin oder Adenin zu Pyrimidinbasen Fehlformationen in der Protein-Synthese verursachen.<sup>38</sup> Diese modifizierte Struktur des Codons führt zu Punktmutationen, welche eine Produktion von Proteinen mit schädlichem Effekt verüben. Im Jahr 2005 konnte das H-ras Protein in erkrankten Harnblasen von Rindern nachgewiesen werden, welche dem Konsum von Adlerfarn ausgesetzt wurden.<sup>39</sup> Das H-ras Protein besitzt GTPase Aktivität und spielt so eine Rolle im Zell-Zyklus. In-vitro Mutations-Untersuchungen haben ergeben, dass H-ras Mutationen im Codon 12-13 und 59-63 Veränderungen der Protein-Formation verursachen und so ihre natürliche Funktion vermindern.<sup>40</sup>

### 2.2.2. Vorkommen

(Angaben von Konzentrationen beziehen sich auf folgende Sorte: *Pteridium aquilinum* ssp. *aquilinum* var. *aquilinum*)

#### Cyanogene Glycoside

Die Konzentration in frischem Pflanzenmaterial beträgt 10,4 - 61,3 mg/g Prunasin mit höherem Anteil in jüngeren Pflanzen als in älteren, sowohl in sporogenen als auch gametogenen Generationen.<sup>41</sup> Es wurden aber auch Höchstwerte von 1600 µg/g ermittelt, welche bei Hydrolyse einen Wert an Blausäure von 400 µg/g anfallen ließen.<sup>7</sup>

#### Flavonole und andere Glycoside

Die höchst gemessenen Werte liegen im Bereich von 500-1000 µg/g.<sup>7</sup>

#### Flavonoide

Sie kommen gesondert im Frühling und frühem Herbst in Konzentrationen von 10000-25000 µg/g vor. Außerdem erhöhen sich ihre Werte in Adlerfarnen, die freiläufige und Sonnen beschienene Territorien besiedeln.<sup>7</sup>

#### Illudane (Ptaquilosid und ptaquilosid-ähnliche Stoffe)

Für die Darstellung der Konzentration der ptaquilosid-ähnlichen Stoffe dient die Messung von Pterodin, da es ein Produkt dieser ist. Sowohl die Farnwedel als auch der Wurzelstock beinhalten die verschiedenen Pterosine, aber hauptsächlich Pterodin B - 20-2100 µg/g in Farnwedel und 10-100 µg/g im Wurzelstock. Außerdem werden sie in Konzentration von 20-80 µg/g in den Sporen übermittelte.

Ptaquiloside können in allen Strukturen der Adlerfarne gefunden werden. Normalerweise ist jedoch der Farnwedel die Struktur mit der höchsten Anzahl an Ptaquilosiden und vermindert seinen Wert nur während der Wachstumsperiode, sodass eine fast umkehrbare Korrelation zwischen dem Inhalt in Farnwedeln und dem Wurzelstock entsteht. Die Konzentration beträgt zur Phase als Crozier 210-3140 µg/g, als junger Farnwedel 60-9780 µg/g und als reifer Farnwedel 110-4450 µg/g.

Im Wurzelstock herrschen stark unterschiedliche Konzentrationen von 2 bis 7050 µg/g. Zum einen besitzt der treibende Wurzelstock generell höhere Werte als der speichernde Wurzelstock. Zum anderen resultieren unterschiedliche Messungen durch saisonale Einflüsse. Zur Zeit der Austreibung der Keimlinge und deren Wachstum herrschen geringere Ansammlungen von Ptaquilosiden als in der Periode nach Reifung der Farnwedel. Diese schwankenden Werte verlaufen ähnlich wie die der Kohlenhydrat-Regeneration und Bereitstellung.

Entgegen aller Vermutungen über hohe Konzentrationen im Sporengut in Verbindung mit dem hohen Erkrankungsrisiko durch Einnahme dieser sind in den Sporen nur Werte von ca. 20 µg/g nachgewiesen worden.

Wieso es zu innerartlichen Unterschieden in der Konzentration kommt, liegt vermutlich zu einem höheren Prozentsatz an genetischen Differenzen als an den Einfluss unterschiedlicher Standorte. Der abiotische Einfluss jedoch von Stickstoff in der Erde konnte in Bezug der Speicherung von Ptaquilosiden im Wurzelstock mit Gewissheit einen stark negativen Ausschlag hervorrufen.<sup>7</sup>

### **2.2.3. Nachweisverfahren**

#### Ptaquiloside

Die früheren Arten der Ermittlung von Ptaquilosiden waren alle recht zeitaufwändig, mit einem geringen Ertrag und benötigten großen Mengen an giftig organischen Lösungsmitteln wie Chloroform. Rasmussen et al. (2003)<sup>7</sup> entwarf aber eine schnellere Methode mit einem geringeren Bedarf an organischen Lösungsmitteln. Die drei Hauptmethoden (Abb.6) wurden vorerst zur Extraktion und Ermittlung aus Adlerfarnmaterial genutzt, können aber auch zur Untersuchung von Milch und Erde verwendet werden.

Allgemein sind es drei Abläufe, die eine Rolle bei der Gewinnung von Ptaquilosiden spielen:

1. Extraktion von Ptaquilosiden mit Hilfe von Wasser auf Grund des hydrophilen Charakters
2. Reinigung von störenden Substanzen, um eine real quantitative Aussage treffen zu können. Speziell Pterodin B entsteht durch das instabile Verhalten der Ptaquiloside. Entfernt wird das Pterodin B mit Hilfe von hydrophob organischem Lösungsmittel oder durch den Einsatz von organisch polymeren Harzen wie das Polyamid 6.
3. Die Errechnung der quantitativen Menge erfolgt meistens mit einem „high performance liquid“ Chromatographen (HPLC)

<b>Abb.6: Die 3 Hauptmethoden zur Reinigung und Ermittlung von Ptaquilosiden</b>		
<b>Methode</b>	<b>Beschreibung</b>	<b>Nutzung</b>
Organische Lösungsmittel	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Wasserextraktion aus frischen Farnwedeln für 2 Stunden</li> <li>- Entfernung von störenden Substanzen mit Aceton-Dichlormethan</li> <li>- Vorreinigung in Quarz-Gel</li> <li>- Quantifizierung nach Umwandlung zu Pterodin B mit HPLC</li> </ul>	Pflanzenmaterial und Milch
Polyamide Harze	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Wasserextraktion von getrockneten Farnwedeln für 1 Stunde</li> <li>- Entfernung von störenden Substanzen mit Polyamid 6 S Hartz</li> <li>- Quantifizierung direkt oder nach Umwandlung zu Pterodin mit HPLC</li> </ul>	Pflanzenmaterial und Erde
TLC	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Wasserextraktion von gefrorenen, getrockneten Farnwedeln für 1,5 Stunden</li> <li>- Lyophilisation (Gefriertrocknung im Vakuum) des wässrigen Extraktes</li> <li>- Quantifizierung mit „two-dimensional thin layer chromatography“</li> </ul>	

Abb. 6

Im Jahr 2010 wurde eine neue Methode von Bonadies et al.<sup>42</sup> veröffentlicht, um Spurenelemente von Ptaquilosiden in biologischen Proben zu ermitteln. Speziell im Bereich der Milchuntersuchung soll diese Behandlungsweise einen Durchbruch darstellen und für weitere Forschung als Wegweiser dienen, weil sie neben anderen Vorteilen auch eine deutlich geringere Menge an Milchproben benötigt. Sie beruht auf der Absorption des Stoffes mit Hilfe eines Carbographen und der drauf folgenden Eluierung mit Lösungsmitteln. Speziell ist hier ist die Vorgehensweise, dass das instabile Ptaquilosid zum stabilen Bromo-Pterosin transformiert wird (Abbildung 7). Hierfür dient die Zugabe des Salzes NaBr und die Erhitzung der alkalischen Lösung. Die Quantifizierung dieses stabileren Stoffes wird dann mit einem Gas-Chromatographen/ Massenspektrometer im „single ion monitoring mode“ erarbeitet. Die daraus resultierenden Werte liegen im Bereich von ng/ml. Dies schafft eine Nutzung nicht nur bei hochgradig Adlferfarn-vergifteten Rindern, sondern auch bei klinisch gesunden Nutztieren wie Schafen, Ziegen, Pferden und Eseln.

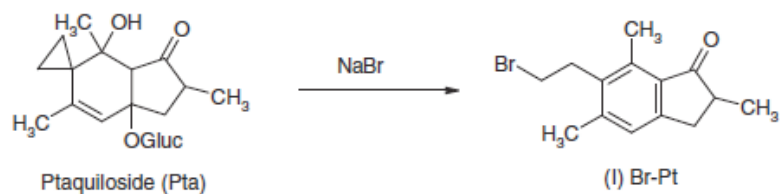


Abb.7: Bildung von Bromo-Pterosin

## **2.3. Veterinärmedizinische Aspekte**

### **2.3.1. Wiederkäuer**

#### **2.3.1.1. Rind**

##### *Bovine enzootische Hämaturie (BEH) – „Stallrot“*

Die Krankheit BEH in Rindern (auch Schafen) ist auf der ganzen Welt vertreten und hat die charakteristischen Merkmale wie Hämorrhagie in der Harnblase und bis hin zu Entwicklung von Tumoren in der Harnblasenwand. Das Aufkommen von Tumoren variiert zwischen Rindern, die auf einem mit Adlerfarn befallenen Feld grasen, kann jedoch bis zu 90% aller ausgewachsenen Herdenmitglieder erfassen.<sup>43</sup> Einige dieser Tumore sind aus Epithel- und Bindegewebsstrukturen entstanden. Die meisten jedoch sind vaskulärer Herkunft und führen so zu intrazystischen Blutungen.<sup>44</sup> Diese dominanteste Manifestation von Symptomen ist das Auftreten von Blut im Urin, welche die chronische Hämaturie charakterisiert. Die Harnblase ist der Hauptangriffspunkt des Adlerfarns und dessen karzinogenen Stoffen wie Ptaquilosiden. Bei einem Konsum ab 3-4 kg frischem Adlerfarn für einen Zeitraum von 3 Monaten treten die ersten klinischen Symptome auf.<sup>45</sup> Hämorrhagie in den Schleimhäuten und der Haut, blutiger Schweißausstoß und erhöhte Körpertemperatur von 40,5-41,0°C treten auf.<sup>46</sup> Des Weiteren kommt es zu Leukopenie mit einem kompletten Verlust an Leukozyten, ausgenommen Lymphozyten, sodass eine Verlängerung der Blutgerinnungszeit entsteht.

Obduktionsberichten nach können im gesamten Körper Blutungen und Ödeme nachgewiesen werden. Die Schleimhaut der Harnblase kann neoplastische Knötchen und Blutungen aufweisen bis hin zu Geschwürformationen. Eine Studie in Italien aus dem Jahr 2010 von Roperto et al.<sup>47</sup> hat eine Klassifizierung für urotheliale Tumore und Tumor ähnlichen Läsionen in ausgewachsenen Rindern herausgegeben, die dem Schema der World Health Organization (WHO) nachempfunden ist. Hierbei wurden 400 Harnblasen aus den Jahren 2000 bis 2008 von Rinderherden untersucht und kategorisiert, die auf Adlerfarn besiedelten Territorien grasten. Die Differenzierung liegt zwischen flachen, papillaren/endophyten, exophyten und invasiven Formen. Flache urotheliale Läsionen bedeuten lediglich eine Verdickung des Urothels mit oder ohne



immunzytologischen Einflüssen. Es liegen hier noch keine zytologisch einsehbaren Veränderungen vor. Mit einem Auftreten von 4% verursachte es klinische Symptome von Haematurie. Zu erwähnen ist noch die hochgradige intraurotheliale Neoplasie, auch genannt Carcinoma in situ (CIS), welche durchaus eine malignant veränderte Zytologie aufweist, aber noch zur Kategorie der flachen Tumore gehört. In 80-90% trat CIS zusammen mit papillaren und invasiven Tumoren auf, um das Urothelium mit diesen zu verbinden, und diente als vorab auftretende Phase. In der Rubrik der papillaren/endophyten Tumore gab es zu 3% der Fälle Papilloma und zu 5% „papillary urothelial neoplasms of low malignant potential“. Letztere besitzen eine noch geringere genetische Stabilität als ein Papillom. Endophytische Tumore sind eingestülpte Formen von Papilloma und können sowohl gutartigen als auch bösartigen Charakter haben. Invasive urotheliale Tumore sind Harnblasen-Karzinome, welche über die Basalmembran hinaus die Blasenwand befallen. Makroskopisch sind es uniforme oder multifokale Verdickungen, die durch transmuralen Wachstum oder gestreut nodulären, ulzerierten Läsionen verursacht wurden.

Weitere hämorrhagische und nekrotische Veränderungen lassen sich in der Niere und dessen Harnkanälchen finden.<sup>48</sup> In der Wand des Gallengangs kommt es zu Hyperplasie und fibrotischen Ablagerungen. Eine ganzjährige Aussetzung von Adlerfarn mit Einnahmen geringerer Dosen kann verschiedene Änderungen in der Blutzusammensetzung verursachen.<sup>49</sup> Erscheinungen einer Toxikose wurden nach 75 Tagen bei einem täglichen Verzehr von 500g getrockneten Adlerfarnpulver erreicht.<sup>50</sup> Im Blut kommt es zur Erhöhung von Harnstoff, Harnsäure, Kreatinin und Phosphataseaktivität. Im Urin hingegen steigen die Werte von Proteinen und Calcium. Außerdem nimmt hier die Anzahl an ausgeschiedenen Epithelzellen, Phosphaten, Calcium-Oxalat-Kristallen zu.

Neuesten Untersuchungen zu Folge herrscht ein Synergismus beim Einfluss auf die chromosomale Instabilität zwischen der Wirkung des Adlerfarnkonsums und dem Bovinen Papilloma Viren(BPV).<sup>51</sup> Von den derzeit 10 bekannten BPViren ist es neben BPV-1 speziell BPV-2, dessen DNA im Urothelium sowohl bei gesunden als auch bei tumorös erkrankten Rindern vorzufinden ist. Dies bedeutet, dass auch latente und subklinische Infektionen eine Rolle spielen können.<sup>52</sup> Diese können durch die

immunhemmende Wirkung des Adlerfarn reaktiviert werden und zum Ausbruch der Krankheit, einschließlich Harnblasentumoren, führen. Kein anderer Virus ist so häufig wie BPV-2 bei Tumoren in der Harnblase involviert. Der Wirkungsmechanismus liegt in der Enkodierung von den drei verschiedenen Onkoproteinen E5, E6 und E7, wobei E5 von größter Bedeutung ist. Es bewirkt chromosomale Veränderungen im Erbgut, indem es zelluläre Transformationen über zwei verschiedene Pfade verursacht. Auf einem Weg initiiert es in direkter Interaktion mit beta-Rezeptoren der „platelet-derived-growth-factors“ (PDGF) eine mitogene Reaktion.<sup>53</sup> Auf andere Weise kann es im indirekten Fall über die Aktivierung von c-Src seine Funktion unabhängig von PDGF ausüben.<sup>54</sup> Allgemein sind chromosomale Alterationen ein häufiges Auftreten bei Rinderherden, die auf mit Adlerfarn befallenen Weiden grasen, und wird zusätzlich verstärkt durch das BPV-2.

Untersuchungen Sood et al. zufolge im Jahr 2003<sup>55</sup> trägt ein weiterer Mechanismus nebst Illudanen (Ptaquilosid), Flavonoiden (Quercetin), Papillomaviren (BPV-2) etc. zu den karzinogenen Veränderungen in der Harnblase bei. Lipid Peroxidationen zusammen mit einem veränderten Status der Antioxidantien führen zu einer höheren Empfängnis von karzinogenen Einflüssen. Ein solch erhöht oxidativer Stress soll für die Produktion der „reactive oxygen species“ (ROS) verantwortlich sein und zu Adlerfarn induziertem Harnblasen-Karzinom führen.

#### Karzinom im oberen Verdauungstrakt

In Großbritannien, Italien, Kenia und speziell Brasilien kommt es häufig zu Fällen von Plattenepithelkarzinomen im oberen Darmtrakt bei Rindern, die einem dauerhaften Kontakt mit Adlerfarnen ausgeliefert sind.<sup>7</sup> Gründe hierfür ist das komplexe System aus karzinogenen Einheiten des Adlerfarns wie Ptaquilosiden und Quercetinen mit ihren immunschwächenden Eigenschaften und der latenten Infektion vom Bovinen Papilloma Virus 4 (BPV-4). In Italien kam es so zu Auswertungen von ösophagialen Läsionen mit 13 % viraler Ursache.<sup>56</sup> Abhängig von der Lage des Tumors kann es bei einem kranial gelegenen Tumor zu klinischen Symptomen wie Husten und Dysphagie führen und bei einem kaudal positionierten zu einem Aufblähen des Pansens kommen.<sup>57</sup>

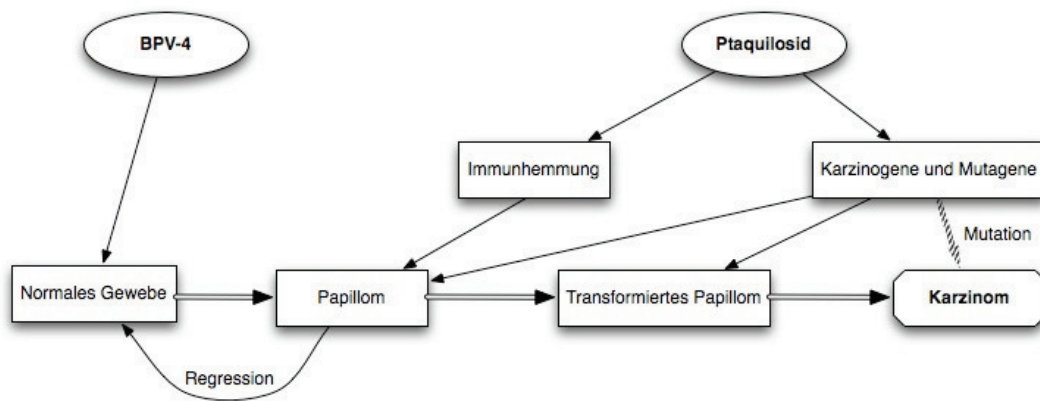


Abb. 8: Interaktion zwischen Bovinem Papilloma Virus- 4 und Adlerfarns Ptaquilosid

In einer Studie aus Brasilien von Masuda et al.<sup>58</sup> wurden Plattenepithel-karzinome (PEK) des oberen Darmtraktes von 40 Rindern untersucht und kategorisiert, die in den Jahren 2003-2006 in Adlerfarn- Gebieten gegrast haben. Man hat zwischen kranial (Zunge, Pharynx, Epiglottis), mittig (Ösophagus) und kaudal (Pansen Eingang) gelegenen Tumoren unterschieden, wobei die mittig gelegenen auf Grund ihres seltenen Vorkommens von geringerer Bedeutung waren. Ergebnisse daraus besagen, dass kranial entwickelte Tumore zu 42,5% auftreten und einen durchschnittlichen Querschnitt von 8-15cm besitzen mit weißgelber endo- und exophytischer Masse und starker Ulcus-Formation. Das Vorkommen von kaudalen Tumoren beträgt 45% und führt zu einem Durchmesser von 10-50cm. Auf Grund ihres malignanten Charakters kommt es in ca. 58% der Fälle zu Metastasen im regionalen Lymphsystem.

Mikroskopisch betrachtet sind es neoplastische Keratozyten der oberflächlichen Epithelschicht, welche hoch invasiv in die inneren Zellschichten vordringen und des Öfteren Nekrose verursachen. Kaudale PEK liegen meistens in weniger differenzierter Form vor als die kranialen PEK und haben erhöht malignante Dispositionen. Dies liegt sicherlich auch daran, dass der Grad der Desmoplasie, also die Intensität der Abgrenzung durch Fibroblasten und Bindegewebe vom restlichen Gewebe, in geringerem Maße vorliegt. Eine weitere Kategorisierung unterschiedlicher Formen von Tumoren kann mit der Betrachtung der fünf haupt- morphologischen Strukturen von mutierenden Keratinozyten erreicht werden, die neben der Infiltrationen von Lymphozyten (in 67% der Fälle) und eosinophilen Granulozyten eine Rolle spielen.

Struktur der Keratozyten:

- Insel-Struktur: Abgrenzung von Keratinozyten
  - o Überwiegend in hoch differenzierten Tumoren (kranial)
- Band-Struktur
- Schnur-Struktur
- Zelluläre Aggregate: Gruppen von 2-5 Zellen
- Individuell neoplastische Zellen: Runde/ amoeboid- oder spindel-/ pfeilartige Struktur
  - o Speziell in schwach differenzierten Tumoren (kaudal)

Auf Grund der Tatsache, dass die Formation von zellulären Aggregaten und individuelle neoplastische Zellen am konstantesten sowohl in stark als auch in schwach differenzierten Tumoren vorhanden sind, stehen sie repräsentativ für den Hauptmechanismus von Invasion und Metastasis. In allen Fällen bezeichnen speziell die spindelförmig, individuell, neoplastischen Strukturen den Beginn der Dedifferenzierung der Tumore und bewirken eine erhöhte metastatische Verbreitung mit deutlich verschlechterter Prognose als Resultat.<sup>59</sup>

#### Akut Hämorrhagisches Syndrom

Das Syndrom tritt häufig bei frisch abgestillten Kälbern auf, die speziell unlängst mit Adlerfarn in Kontakt gekommen sind, kann aber auch gelegentlich bei älteren Rindern und Schafen vorkommen. Eine zum Tode führende akute Vergiftung durch Adlerfarn ist aber regulär nur durch experimentelle Verabreichung der Pflanzenstoffe zu erreichen. Eine solche Darstellung dient gut dazu, den charakteristischen Verlauf der akuten Hämorrhagie darzustellen und deren Wirkungsweise zu analysieren. Anjos et al. (2009)<sup>60</sup> hat eine Tagesration von 8-10 g/kg KG frischen Farnwedel für einen Zeitraum von 58 Tagen an 4 Kälbern im Alter von 18 Monaten und einem Gewicht von 190-215 kg verabreicht. Zusammenfassend war dies am Ende des Experiments ein Gesamtvolumen von ca. 50 % des Gesamtgewichts eines Kalbes. Zu den daraus resultierenden klinischen Symptomen gehört hohes Fieber von bis zu 42,5°C und unterschiedliche Grade an Blutungen, sowohl klinisch als auch pathologisch/ histologisch feststellbar. Der Tod trat bei allen 4 Kälbern 6-7 Tage nach dem Aufkommen des hohen Fiebers ein. Unter

hämatologischer Untersuchung ist eine enorme Trombozytopenie und Neutropenie festzustellen. Die Hälfte der untersuchten Kälber litt unter milder Anämie. Ob eine disseminierte intravasale Koagulopathie bei den Vergiftungsmechanismen eine Rolle spielt, ist anhand des Fibrin-Spiegels nicht konkret definierbar. Histopathologisch ist jedoch klar eine Verminderung des Knochenmarks zu erkennen, was eine stark verminderte Anzahl an Megakaryozyten nach sich zieht und die damit verringerte Produktion von Thrombozyten erklärt. Die Anzahl von hämatopoietischen Zellen ist auf Grund dieser Aplasie stark dezimiert. Speziell das Sternum ist großen Umbauprozessen ausgeliefert, so dass es zum Austausch von Knochenmarkzellen mit Fettzellen kommt und nur noch kleine Foci mit Blut produzierenden Eigenschaften übrig bleiben.<sup>61</sup> Außerdem erlagen drei der Kälber einer bakteriellen Infektion durch *Klebsiella oxytoca*, *St. Hyicus* und *St. aureus* im Blut, dessen resultierende Septikämie einschließlich verminderter neutrophiler Granulozyten einen Teil zur Todesursache beitrugen.

### **2.3.1.2. Kleine Wiederkäuer**

Schafe sind generell weniger empfänglich für krankhafte Veränderungen durch den Konsum von Adlerfarn, besitzen aber das Potenzial zu ähnlichen Krankheitssymptomen wie zuvor beschrieben die Rinder.

#### *Retinale Atrophy – Tageslicht Blindheit*

Die so genannte „Bright- Blindness“ wurde zuerst in England im Jahr 1965 identifiziert und von Watson et al.<sup>62</sup> im Jahr 1972 veröffentlicht. Die Namensgebung liegt an seiner Erscheinungsform. Bei halbdunkler Umgebung ist ein abnormer Glanz auf dem Auge zu erkennen. Es ist eine Stenose von Blutgefäßen und eine Atrophie der Retina, die in Schafen auf Grund langzeitigem Adlerfarnkonsums erst im Alter von über 18 Monaten auftritt. Die klinischen Symptome beinhalten Blindheit, hochschrittiger Gang und Mydriasis der Pupille mit schlechtem Licht-reflex.<sup>46</sup> Ophthalmologischen Untersuchungen nach liegt keine Konjunktivitis, Keratitis oder Linsentrübheit vor. Erste Symptome lassen sich anhand des Tapetum lacidum erkennen, welches den Lichtstrahl des Ophthalmoskops spiegelartig zurückwirft. In weiter fortgeschrittenen Fällen ist das

Tapetum nigrum mit feinen Brüchen und kleinen grauen Punkten versehen. Unter histologischer Betrachtung wird deutlich, dass alle Veränderungen auf die Retina begrenzt sind. Deren äußere Schicht mit Stäbchen kann komplett zerstört sein. Der Grund hierfür ist die progressive Degeneration des retinalen Neuroepithels durch die Wirkung von Ptaquilosiden.<sup>7</sup>

#### Künstlich induzierte Thiamin Mangelercheinung

Einem Versuch Evans et al. im Jahr 1975<sup>63</sup> nach konnte eine Thiamin Mangelercheinung unter experimentellen Konditionen geschaffen werden, ist jedoch in freier Natur auf Grund der bakteriellen Eigenproduktion von Thiamin bei Wiederkäuern nicht zu erwarten.

### **2.3.2. Nicht- Wiederkäuer**

#### **2.3.2.1. Pferd**

##### Thiamin Mangelercheinungen

Monogastrische Lebewesen, speziell Pferd und Schwein, erleiden bei hohem Konsum von Adlerfarn Nervenschäden bis hin zum Tod. Anders als Wiederkäuer besitzen sie nicht die nötige Kapazität an mikrobieller Flora im Darmtrakt, um die negative Balance von Vitamin B1 (Thiamin) mit einer Produktion seitens der Bakterien auszugleichen. Die frühen Symptome bestehen aus Anorexie, Ataxie und daraus resultierendem Opisthotonus. Weiterführend kommt es zu Krämpfen bis hin zum Tod, wenn irreversible Läsionen von Polyencephalomalazie im Gehirn auftreten. Außerdem treten Krankheitsmerkmale wie Schrittunsicherheiten, Stürze und Verluste der Koordinationsfähigkeit auf. Die Herzfrequenz erhöht sich mit gleichzeitig verringerten Herztönen, so dass schon geringe Betätigung zu Erschöpfung führt. Auf Grund des verminderten Thiamingehalts im Blut lassen sich erhöhte Werte von Pyruvat feststellen, da diesem das Ko-Enzym Thyaminphosphat fehlt. Eine klinisch erkennbare Erkrankung manifestiert sich jedoch erst nach einem 1-2 monatigen Konsum von mindestens 20%igen Anteil an Adlerfarn im Futter.<sup>64</sup>

Das Syndrom wird durch das Thiaminase Enzym Typ I verursacht, welches Thiamin in seine 2 Ringstrukturen bricht. Die Aktivität der Thiaminase ist speziell im Sommer am stärksten im Rhizom vorzufinden und in den Croziers, wo es hier jedoch im Zuge des Reifungsprozesses an Intensität verliert. Nur durch rechtzeitige Verabreichung von Thiamin kann ein solcher Mechanismus gestoppt werden.<sup>65</sup>

### **2.3.2.2. Schwein**

#### Thiamin Mangelercheinungen

In einem Versuch von Evans et al. (1972)<sup>66</sup> wurden zwei Schweine mit einer zu 25-33 % Adlerfarn beinhaltenden Futterration ernährt. Hierbei wurde getrockneter und gemahlener Wurzelstock verwendet und unter das herkömmliche Futter gemischt. Die ersten Anzeichen einer Vergiftung waren am Tag 20 mit einer Zunahme an Pyruvat und einer Abnahme des Transketolase Enzyms im Blut. Die damit verbundenen ersten Symptome beliefen sich auf Apathie und verminderten Appetit. Von Tag 40 an lag deutlich ein anorektisches Erscheinungsbild vor mit regelmäßigem Erbrechen. Im Endstadium kam es dann zum plötzlichen Niederlegen, Dyspnoe und Tod innerhalb von 6 Stunden.

Unter pathologischer Betrachtung war als dominantestes Merkmal ein vergrößertes und marmoriertes Herz. Die Lungen waren ödematös und in der Trachea kam es zur Ansammlung von Schaum. Außerdem erlagen die Schweine leichter Aszites mit fibrinösen Fäden am Peritoneum. Zusätzlich mikroskopische Untersuchungen des Myokardiums zeigten degenerative Prozesse der Muskelfasern bis hin zu nekrotischen Veränderungen.

Den Daten Edwards (1983)<sup>67</sup> zu Folge starben 4 von 22 Ferkel nach dem mütterlichen Konsum von Adlerfarn.

### 2.3.2.3. Maus

Bei einer langwierigen Verabreichung einer Suspension von Wasser und Sporen des Adlerfarns erkrankten von 98 Mäusen 53 an Malignomen, 28 an Leukämie und 6 an Magengeschwüren.<sup>68</sup>

Untersuchungen von Freitas et al. aus dem Jahr 2001<sup>69</sup> bezogen sich auf die Wirkung der Ptaquiloside und ihren Einfluss auf den Organismus in Form des DNA-Addukts. So wurden mit Adlerfarn Extrakten und Sporen gefütterte Mäuse auf ihre Anzahl an DNA-Addukten im Gewebe mit Hilfe von <sup>32</sup>P-postlabeling Methoden überprüft. Erstaunlicherweise konnten jedoch vom aktivierten Ptaquilosid entstehende DNA-Addukte nur im *in vitro* induzierten Gewebe erfasst werden. In den experimentell gefütterten Mäusen wurde ein solches DNA-Addukt nicht gemessen. Weil aber andere Addukte aufkamen und zu ähnlichen Gewebsänderungen führten, muss der Grund entweder bei genotoxischen Substanzen der Pflanze liegen, die bei der Produktion von aktiviertem Ptaquilosid entstehen oder bei anderen Ptaquilosid-ähnlichen Stoffen wie Ptaquilosid Z.

Weitere Untersuchungen von Latorre et al. aus dem Jahr 2009<sup>70</sup> zeigten, dass die Verabreichung von Adlerfarnextrakt bei Mäusen einen toxischen Effekt auf das Immunsystem hat. Nachgewiesen wurde dies anhand der verringerten Messwerte von natürlichen Killerzellen, verbunden mit ihrer zytotoxischen Aktivität und der Produktion von IFN $\gamma$ . Diese natürlichen Killerzellen sind im Prinzip Effektorzellen der immanenten Immunität, die unter anderem die Funktion besitzen, viral infizierte Zellen zu töten oder das Wachstum und die Verbreitung von Tumorzellen zu stoppen. Diese Funktionen zeigen so auf, dass genau diese Verminderung von natürlichen Killerzellen eine erhöhte Prädisposition zu anderen Erkrankungen und speziell Tumorentwicklung verursachen.

### 2.3.2.3. Meerschweinchen

Eine Gruppe von Meerschweinchen wurde mit luftgetrocknetem Adlerfarn Pulver als eine Futterration von 30% der Tageseinnahme ernährt. Symptome wie Abnahme von Körpergewicht, Hämatokrit- und Hämoglobinkonzentrationen waren zusammen mit



Hämaturie die resultierenden Hauptmerkmale. Bei einem der Tiere traten nach längerem Konsum auch metastatische Karzinome in der Lunge, Leber und in dem Darmtrakt auf.<sup>46</sup>

Vermutungen Tjatur-Rasa et al.<sup>71</sup> nach wird sogar angenommen, dass *Pteridium aquilinum* eine neue Substanz als Haemolysin beinhaltet, welches die akute Hämolyse im Organismus hervorruft.

#### **2.3.2.4. Ratte**

Durch die tägliche Fütterung von Farnwedeln, Stängel und Rhizomen trat bei den untersuchten Ratten folgendes Krankheitsbild auf.<sup>46</sup> Die Leber war gestaut und vergrößert, die Nieren waren blutarm und die Harnblase wies mehrfache Blutungen auf. Bei unterschiedlich höheren Dosen von Ptaquilosiden entstanden Tumore im Ileum und in der Harnblase. Außerdem traten milde Ödeme im Hirn auf, die Hepatozyten und Zellen des Hodens standen unter degenerativem Einfluss und im Darmtrakt kam es zu anormal hoher Sekretionsintensität der Drüsen. Die Nebeneffekte wie Schläfrigkeit und verminderte Bewegung sind wohl eher Symptome der hohen Einnahme des Thiaminase Enzyms.

#### **2.3.2.5. Kaninchen**

Mit Adlerfarn gefütterte Kaninchen zeigten progressive Anämie, Leukopenie und Lymphopenie als Resultat.<sup>46</sup> Ihr Blutbild wies einen Anstieg im Serum Transaminase (SGPT) auf, in der Alkalin-Phosphatase (ALP) und in der Harnstoff und Kreatinin Konzentration. Unter pathologischer Betrachtung lagen Veränderungen im Gefäßsystem des Darmtraktes vor mit Formen von Hypersekretion, vakuoläre Degenerationen von Hepatozyten und Sedimentation von Harnzylindern innerhalb des tubulären Nierensystems.

Die intravenöse Verabreichung von 50-100 mg/kg KG isoliertem Ptaquilosiden führte zu akut toxischen Effekten.

## **2.4. Humanmedizinische Aspekte:**

Auf Grund des langjährigen Prozesses der Tumorbildung sind Aussagen über eine karzinogene Wirkung des Adlerfarns bei Menschen nur schwer zu treffen. Denn diese genbasierten Veränderungen durch den Hauptstoff Ptaquilosid beziehen sich auf einen Einfluss von mehreren Monaten bis Jahren oder Jahrzehnten. Qualifizierte Angaben lassen sich daher nur mit Hilfe von in vitro Verfahren, Tierversuchen und epidemiologischen Untersuchungen machen.

Unter der Betrachtung der möglichen Angriffspunkte der karzinogenen Wirkung des Adlerfarns beim Menschen sind hier zwei zu differenzieren. Zum einen können die sich weit verbreitenden Sporen im respiratorischen Trakt sich niederlassen und dort zu neoplastischen Veränderungen führen. Zum anderen steht der obere Darmtrakt im Blickfeld, da Regionen des Mitteldarms bereits mit ihrem sauren Milieu für ein ungeeignetes Umfeld der Ptaquiloside sorgen würden. Genauen Aussagen über den Befall von Sporen und ihrer direkten Wirkung auf das respiratorische System konnten nie mit Hilfe eindeutiger Studien belegt werden.<sup>72</sup>

Zwei Wege lassen sich jedoch festhalten, die zum Kontakt mit Adlerfarn führen können:

### **2.4.1. Adlerfarn als direktes Nahrungsmittel**

Gründe abseits des eigentlich bitteren Geschmacks des Adlerfarns waren schon seit je her und speziell in Zeiten von Hungersnöten die durchaus akzeptablen Werte von Stärke im Wurzelstock und der saftige Charakter der Croziers. Heutzutage lassen sich zum Beispiel in Japan noch erhöhte Fälle von Magenkrebs festhalten. In den zentralen Honchu Inseln liegt ein Konsum des kulinarischen Gerichts „Warabi“ vor, welcher einen Verbrauch von 13000 Tonnen an Crozier darstellt. Dies kann einen Wert von 13-169kg pures Ptaquilosid bedeuten.<sup>72</sup> Angaben zufolge soll es bei einem täglichen Konsum von Warabi zu einem 2,68-fach erhöhten Aufkommen von Krebs im Ösophagus kommen. Ähnlich wie bei an Ratten durchgeführten Versuchen, kommt es bei der Behandlung des Adlerfarns mit kochendem Wasser, wie es zur Herstellung des Warabis geschieht, weiterhin zu karzinogenen Veränderungen. Entgegen der Vermutung, dass der

Adlerfarn auf Grund seiner Sensitivität gegenüber alkalischem Milieu und Hitzeempfindlichkeit seine karzinogene Wirkung durch das Abkochen mit Wasser verlieren und zur harmlosen Form Pterosin B übergehen würde, übersteht er das Prozedere mit nur leicht abgeschwächten karzinogenen Eigenschaften.<sup>73</sup>

#### **2.4.2. Konsum des Adlerfarns im indirekten Weg**

Untersuchungen aus Wales haben ergeben, dass die Wahrscheinlichkeit, an Magenkrebs zu erkranken, um so höher ist, je länger ein Mensch einem Gebiet mit hoher Dichte von Adlerfarn ausgeliefert ist. Speziell für Menschen, die im Kindesalter dem Konsum von Adlerfarn ausgeliefert waren, besteht eine über 2-fach stärkere Prädisposition zur malignanten Entwicklung von Magentumoren.<sup>74</sup> Gründe für das erhöhte Auftreten wurden zuerst in Wasserproben von Brunnen vermutet, da bei einer Reinigung der Pflanze auch im Waschwasser erhöhte Werte von Ptaquilosiden vorliegen. Leicht gesteigerte Werte ließen sich aufweisen, besaßen aber kein statistisches Gewicht. Letzten Endes fiel das Augenmerk auf den Konsum von Buttermilch, dessen Einnahme das Risiko auf Magenkrebs um ein 1,86-faches beeinflusst. Es ist jedoch zu erwähnen, dass bei diesem Produkt auch andere Eigenschaften, wie sein saurer Charakter, eine Rolle spielen kann.

In einem westlichen Gebiet Venezuelas, welches stark mit Adlerfarn befallen ist und ein Aufkommen der Bovinen enzootischen Hämaturie von 20% in Rindern aufweist, ließ sich eine 3,64-fache Erhöhung an an Magenkrebs erkrankten Menschen feststellen. Die statistische Aussage wurde in direktem Vergleich mit einer Population von Menschen getroffen, die ihre Herden in einem Gebiet frei von Adlerfarn aufzogen.<sup>75</sup>

#### **2.4.3. Verbindung zwischen Tier und Mensch**

Schon in frühen Arbeiten von Evans et al. (1972)<sup>76</sup> wurde darüber spekuliert, ob Karzinogene über die Milch übertragen werden. Mit einem Versuch konnten sie dies dann auch bestätigen. Sie gaben 106 Tage lang einem Kalb eine tägliche Ration von 1-1,5

Gallonen die Milch einer Kuh, die für 25 Tage mit einer Tagesration von 1,4-2kg getrocknetem Adlerfarn zuvor gefüttert wurde. Die daraus resultierenden Symptome des Kalbes waren ähnlich einer Kuh, die dem direkten Konsum der Pflanze ausgeliefert ist. Nachdem dann die Struktur von Ptaquilosiden erforscht wurde, kam es zu immer mehr analytischen Methoden der Milch, die eine direkte Bestimmung des Stoffes in der Milch möglich machten. (siehe Nachweisverfahren 2.2.3.) Systematische Verabreichung von Farnwedeln wies so nach, dass bereits 36 Stunden nach dem Konsum erste Werte von Ptaquilosiden in der Milch gemessen werden können und diese Messungen nach 96 Stunden eine Plateauphase erreichen.<sup>77</sup> Aussagen zu den quantitativen Verhältnissen zwischen Ptaquilosid Aufnahmen und Absonderung durch die Milch ließen sich 1998 durch die Arbeit von Alonso et. al.<sup>78</sup> machen. Sie besagt, dass nach einem Konsum von 5 Tagen 8% an eingenommenem Ptaquilosiden mit Hilfe der Milch ausgeschieden werden.

## **2.5. Mögliche Behandlungsformen**

Nachforschungen Latorre et al. zufolge aus dem Jahr 2011<sup>79</sup> haben ergeben, dass die Verabreichung von Selenium einen reversiblen Effekt auf die immuntoxische Wirkung des Adlerfarns besitzt. Diese Forschungsarbeit ist die erste Studie darüber, wie eine solche immuntoxische Wirkung mit Hilfe von Selenium umzukehren ist. Beruhend auf deren vorherigen Untersuchungen über den Adlerfarn und seiner hemmenden Wirkung auf das Immunsystem und speziell auf natürliche Killerzellen, begannen Latorre et al. diese Studie.

Hierbei wurden zum einen Mäuse für 30 Tage mit Adlerfarn-Extrakten gefüttert. Diese wiesen daraufhin die typischen histopathologischen Veränderungen, wie zellulärer Abbau und Verlust von Strukturen im weißen Pulpa der Milz auf. Erfolgreich konnten derlei Modifikationen mit Hilfe einer 30 Tage andauernden Einnahme von Selenium behoben werden. Hierbei wurde Natriumselenit ( $\text{Na}_2\text{SeO}_3$ ) als Seleniumquelle verwendet. Außerdem musste für eine ausreichende Verabreichung von Thiamin gesorgt werden, um die Mangelerscheinungen, hervorgerufen durch Aktivität des Thiaminase-Enzyms, zu beheben.

Andere Gruppen von Mäusen wurden für 14 Tage einer direkten Zufuhr von Ptaquilosiden ausgesetzt. Bei diesen konnte sogar der pathologische Befund durch vorherige und gleichzeitige Verabreichung von Selenium vermieden werden.

Auch in vitro Verfahren bestätigten sowohl die co- als auch post-Administration von Selenium als Mittel gegen die Regressionsprozesse innerhalb der Milz.

Selenium ist nicht nur notwendig für die normalen Aufgaben des Immunsystems, sondern auch von Vorteil für dessen Verbesserung und Verstärkung.

- Erhöhte Expression der hoch affinen Interleukin-2 Rezeptoren der T-Zellen
- Verringerung des oxidativ induzierten Stresses an Immunzellen
- Verkleinerung des Verhältnisses von Thromboxanen zu Leukotrienen, welches die Aggregation der Thrombozyten positiv verändert.

Die histopathologischen Befunde zeigten ähnliche Veränderungen wie bei Rindern auf, die unter Akuter Hämorrhagie durch Konsum von *Pteridium aquilinum* litten. Eine Untersuchung der Wirksamkeit des Seleniums bei Rindern wäre damit der nächste Schritt zur Untersuchung von Heilungsmethoden.

### **3. Zusammenfassung**

Der Adlerfarn, *Pteridium aquilinum*, ist eine der am weit verbreitetsten Pflanzenarten der Welt. Ihre Ausbreitung ist nur durch extremste Temperaturen oder Feuchtigkeit eingeschränkt. Unterschiedlichen landwirtschaftlichen Faktoren zu Folge ist der Viehbestand gezwungen, Adlerfarn zu konsumieren. Auch Menschen haben Adlerfarn oder seine Toxine als Einnahmequelle sowohl in Form der Croziers oder Rhizome als auch in indirekter Weise durch den Konsum von Milch der Tiere, die auf mit Adlerfarn bewachsenen Weiden grasen.

Als Resultat bewirkt *Pteridium aquilinum* eine Reihe von bekannten Syndromen bei Nutztieren. Diese beinhalten Thiamin Mangelerscheinungen bei Monogastriden, akutes Hämorrhagisches Syndrom verbunden mit Rückenmarksaplasie und Ulzeration des oberen Darmtrakts, Retinale Atrophie bei Schafen und zwei neoplastische Formationen.

Diese zwei bestehen aus der Tumorentwicklung in der Harnblase, die so genannte enzootische Hämaturie, und die Karzinomentwicklung im oberen Darmtrakt. Der Hauptgrund dafür ist die karzinogene Substanz Ptaquilosid, ein nor-sesquiterpenoides Glykosid. Weitere Substanzen scheinen jedoch auch eine Rolle zu spielen und speziell in Zusammenarbeit mit Papillomaviren.

Epidemiologische Untersuchungen zeigen auf, dass das Krebsrisiko beim Menschen durch den direkten oder indirekten Konsum des Adlerfarns gesteigert wird. Ptaquiloside formen DNA-Addukte, die mit der Gensubstanz, speziell Adenin, interagieren und Mutationen im Kodon hervorrufen.

Versuche an Mäusen zeigten bereits erste Schritte bei der Bekämpfung der immunschwächenden Wirkung der Ptaquiloside, wo mit Hilfe von Selenium ein präventiver und reversibler Effekt geschaffen wurde.

#### **4. Abstract**

*Pteridium aquilinum* also called bracken fern is one of the most common weed plants in the world. Its propagation is only limited by extreme kinds of temperature or humidity. Due to changing agricultural factors; farm animals are sometimes forced to consume huge amounts of bracken fern. Humans also are in contact with it either directly, by eating the fronds and rhizomes or indirectly by consuming bracken fern infested milk.

As a result, farm animals show a series of known syndromes due to the toxic substances of bracken fern. These include; thiamine deficiency of monogastric animals, acute haemorrhagic syndrome together with bone marrow aplasia and upper alimentary ulceration, retinal atrophy in sheep and two neoplastic disease syndromes. These two syndromes consist of neoplasia of the urinary bladder leading to haematuria and a syndrome involving upper alimentary carcinomata.

The main reason for these neoplastic formations is the nor- sesquiterpenoid type of a glycosid called ptaquiloside. Also other carcinogens and mutagens seem to play a role especially in association with papilloma viruses.

Epidemiological analyses showed that the risk of cancer in humans is increased by direct or indirect consumption of bracken fern. Ptaquilosides are forming a DNA-Adduct which interacts with genetic material, especially adenin which then subsequently causes abnormal mutations.

Experimental trials on mice determined the first steps in the control of the immunotoxic effect induced by ptaquilosides and proved that selenium has a preventive role as well as a reversible effect.

## 5. Abbildungsverzeichnis

Abb.1.1: <http://www.bewilder.de/RHW/assets/images/Pflanzenwelt012.jpg>

Abb.1.2: Modifiziert nach Rasmussen, L.M.(2003): Ptaquiloside- an environmental hazard?, *PHD Thesis Royal Veterinary and Agriculture University Frederiksberg*, pp.20, Denmark

Abb.2: <http://science.jrank.org/pages/40152/prunasin.html>

Abb.3: <http://toxicopoeia.com/?get=compounds&compound=Thiamine&type=vitamins>

Abb.4: Modifiziert nach Rasmussen, L.M.(2003): Ptaquiloside- an environmental hazard?, *PHD Thesis Royal Veterinary and Agriculture University Frederiksberg*, pp.41, Denmark

Abb.5: Modifiziert nach

<http://www.wildflowerfinder.org.uk/Flowers/B/Bracken/Bracken.htm>

Abb.6: Modifiziert nach Rasmussen, L.M.(2003): Ptaquiloside- an environmental hazard?, *PHD Thesis Royal Veterinary and Agriculture University Frederiksberg*, pp.60, Denmark

Abb.7: Bonadies, F., Berardi, G., Nicoletti, R., Romolo, F.S., De Giovanni, F., Marabelli, R., Santoro, A., Raso C., Tagarelli A., Roperto, F., Russo V., Roperto, S. (2010): A new, very sensitive method of assessment of ptaquiloside, the major bracken carcinogen in the milk of farm animals, *Food Chemistry* **124**, pp.661

Abb.8: Modifiziert nach Rasmussen, L.M.(2003): Ptaquiloside- an environmental hazard?, *PHD Thesis Royal Veterinary and Agriculture University Frederiksberg*, pp.39, Denmark



## 6. Literaturverzeichnis

- <sup>1</sup> Taylor, J.A., Smith, R.T. (2000): Bracken Fern: Toxicity, Biology and Control. *Special Publication No. 4*, The International Bracken Group, Leeds, UK,
- <sup>2</sup> Thomson, J.A. (1990) Bracken morphology and life cycle: preferred terminology. *Bracken Biology and Management* (eds J.A. Taylor & R.T. Taylor), pp. 333-339. Australian institute of Agriculture Science. Occasional Publisher no.40. AIAS, Sydney, Australia
- <sup>3</sup> Brownsey, P.J. and Smith-Dodsworth, J.C. (1989): *New Zealand Ferns and Allied Plants*. Auckland: David Bateman. New Zealand.
- <sup>4</sup> Rumpf, S., Cromey, M. and Webb, C.J. (1994): Ultrastructure and function of the nectaries of New Zealand Bracken (*Pteridium esculentum* (Forst. f.) Cockayne). *New Zealand Journal of Botany* **32**, 487-496.
- <sup>5</sup> Tryon, R.M. (1941): A Revision of the genus *Pteridium*. *Rhodora*, **43**, 1-31
- <sup>6</sup> Marrs, R.H. & Watt, A.S. (2006): Biological Flora of the British Isles: *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn. *Journal of Ecology* 2006, **94**, 1272-1321
- <sup>7</sup> Rasmussen, L.H. and Hansen, H.C.B. (2003) Growth of Bracken in Denmark and the content of ptaquiloside in fronds, rhizomes and roots. In: Acamovic, T., Stewart, C.S. and Pennycott, T.W., (Eds.) *Poisonous Plants and Related Toxins*. Wallingford: CAB International. United Kingdom.
- <sup>8</sup> Watt, A.S. (1940) Contributions to the ecology of Bracken (*Pteridium aquilinum*). I. The rhizome. *New Phytologist* **39**, 401-422.
- <sup>9</sup> Whitehead, S.J. and Digby, J. (1995) Morphological and physiological behaviour of Bracken at advancing fronts: Implications for control. In: Smith, R.T. and Taylor, J.A., (Eds.) *Bracken: An Environmental Issue. Contributions to an International Conference. Bracken 94. University of Wales, Aberystwyth, 18-21 July 1994*, pp. 33-37. Aberystwyth: International Bracken Group. United Kingdom.
- <sup>10</sup> Sheffield, E., Wolf, P.G. and Hafler, C.H. (1989) How big is a Bracken plant? *Weed Research* **29**, 455-460.
- <sup>11</sup> Shorina, N.I. (1990) The structure of Bracken fern stands in relation to morphology. In: Thomson, J.A. and Smith, R.T. (Eds.). *Bracken Biology and Management*, pp. 52.

Occasional Publication No. 40, Australian Institute of Agricultural Science:  
Hawthorn. Australia.

- <sup>12</sup> Wolf, P.G., Haufler, C.H. and Sheffield, E. (1988a) Maintenance of genetic variation in the clonal weed *Pteridium aquilinum* (Bracken). *SAAS Bulletin of Biochemistry and Biotechnology* **1**, 46-50.
- <sup>13</sup> Kendall, A., Page, C.N. and Taylor, J.A. (1995) Linkages between Bracken sporulation rates and weather and climate in Britain. In: Smith, R.T. and Taylor, J.A., (Eds.) *Bracken: An Environmental Issue. Contributions to an International Conference. Bracken 94. University of Wales, Aberystwyth, 18-21 July 1994*, pp. 77-81.  
Aberystwyth: International Bracken Group. USA.
- <sup>14</sup> Bell, P.R. (1976) Gametogenesis and fertilization in *Pteridium*. *Botanical Journal of the Linnean Society* **73**, 47-78.
- <sup>15</sup> Page, C.N.(1976) The Taxonomy and Phytogeography of bracken – A Review.  
*Botanical Journal of the Linnean Society*, **73**, 1-34
- <sup>16</sup> Nicholson, I.A. and Paterson, I.S. (1976) The ecological implications of Bracken control to plant/animal systems. *Botanical Journal of the Linnean Society* **73**, 269-283.
- <sup>17</sup> Rymer, L. (1976) The history and ethnobotany of Bracken. *Botanical Journal of the Linnean Society* **73**, 151-176.
- <sup>18</sup> Marrs, R.H., Le Duc, M.G., Mitchell, R.J., Goddard, D., Paterson, S. and Pakeman, R.J. (2000) The ecology of Bracken: its role in succession and implications for control. *Annals of Botany* **85**, 3-15.
- <sup>19</sup> Pakeman, R.J. and Hay, E. (2001) Heathland seedbanks under Bracken *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn and their importance for re-vegetation after Bracken control. *Journal of Environmental Management* **47**, 329-339.
- <sup>20</sup> Evers, L. (1986) Bracken ecology and management problems on the Selway Ranger District. Moscow: University of Idaho. **60**, 9968
- <sup>21</sup> Taylor, J.A. and Smith, R.T. (1995) Bracken 2000 and beyond. In: Smith, R.T. and Taylor, J.A., (Eds.) *Bracken: An Environmental Issue. Contributions to an International Conference. Bracken 94. University of Wales, Aberystwyth, 18-21 July 1994*, pp. 214-224. Aberystwyth: International Bracken Group. United Kingdom.

- <sup>22</sup> Rymer, L. (1976) The history and ethnobotany of Bracken. *Botanical Journal of the Linnean Society* **73**, 151-176.
- <sup>23</sup> Newsome, P.F.J. (1987) *The Vegetative Cover of New Zealand*. Wellington: National Water and Soil Conservation Authority. New Zealand.
- <sup>24</sup> Fujio Morrow, M. (2000) Bracken as food: a Japanese perspective. In: Taylor, J.A. and Smith, R.T., (Eds.) *Bracken Fern: Toxicity, Biology and Control. Proceedings of the International Bracken Group Conference Manchester 1999*, pp. 204-205. Aberystwyth: International Bracken Group. United Kingdom.
- <sup>25</sup> Rymer, L. (1976) The history and ethnobotany of Bracken. *Botanical Journal of the Linnean Society* **73**, 151-176.
- <sup>26</sup> Cooper-Driver, G.A. and Swain, T. (1976) Cyanogenic polymorphism in Bracken in relation to herbivore predation. *Nature* **260**, 604-604.
- <sup>27</sup> Schreiner, I., Nafus, D. & Pimentel, D. (1984) Effects of cyanogenesis in bracken fern (*Pt. aquilinum*) on associated insects. *Ecology entomology*, **9**, 69-79.
- <sup>28</sup> Jones, C.G. (1983) Phytochemical variation, colonization, and insect communities: the case of Bracken fern. In: Denno, R.F. and McClure, M.S., (Eds.) *Variable Plants and Herbivores in Natural and Managed Systems*, pp. 513-558. New York: Academic Press, Inc. USA.
- <sup>29</sup> Musonda, C.A. and Chipman, J.K. (2000) Carcinogenic and anti-carcinogenic potential of quercetin. In: Taylor, J.A. and Smith, R.T., (Eds.) *Bracken Fern: Toxicity, Biology and Control. Proceedings of the International Bracken Group Conference Manchester 1999*, pp. 106-115. Aberystwyth: International Bracken Group. United Kingdom.
- <sup>30</sup> Jones, C.G. (1983) Phytochemical variation, colonization, and insect communities: the case of Bracken fern. In: Denno, R.F. and McClure, M.S., (Eds.) *Variable Plants and Herbivores in Natural and Managed Systems*, pp. 513-558. New York: Academic Press, Inc. USA.
- <sup>31</sup> Cooper-Driver, G.A., Finch, S. and Swain, T. (1977) Seasonal variation in secondary plant compounds in relation to the palatability of *Pteridium aquilinum*. *Biochemical Systematics and Ecology* **5**, 177-183.

- <sup>32</sup> Ngomuo, A.J. and Jones, R.S. (1996) Cytotoxicity studies of quercetin, shikimate, cyclohexanecarboxylate and ptaquiloside. *Veterinary and Human Toxicology* **38**, 14-18.
- <sup>33</sup> Evans, W.C. (1986) The acute diseases caused by Bracken in animals. In: Smith, R.T. and Taylor, J.A., (Eds.) *Bracken - Ecology, Land Use and Control Technology*, pp. 121-132. Carnforth: Parthenon Publishing. United Kingdom.
- <sup>34</sup> Fukuoka, M. (1982) Chemical and toxicological studies on Bracken fern, *Pteridium aquilinum* var. *latiusculum*. VI. Isolation of 5-o-caffeoylshikimic acid as an antithiamine factor. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin* **30**, 3219-3224.
- <sup>35</sup> Potter, D.M. (2000) The *Pteridaceae* as a source of compounds with pharmaceutical activity. In: Taylor, J.A. and Smith, R.T., (Eds.) *Bracken Fern: Toxicity, Biology and Control. Proceedings of the International Bracken Group Conference Manchester*, pp. 60-67. Aberystwyth: International Bracken Group. United Kingdom.
- <sup>36</sup> van der Hoeven, J.C.M., Lagerweij, W.J., Posthumus, M.A., van Veldhuizen, A. and Holterman, H.A.J. (1983) Aquilide A, a new mutagenic compound isolated from Bracken fern (*Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn). *Carcinogenesis* **4**, pp. 1587-1590.
- <sup>37</sup> Evans, W.C., Korn, T., Natori, S., Yoshihira, K. and Fukuoka, M. (1983) Chemical and toxicological studies on Bracken fern, *Pteridium aquilinum* var. *latiusculum*. VIII. The inability of Bracken extracts containing pterosins to cause cattle Bracken poisoning. *Journal of Pharmacobiodynamics* **6**, pp. 938-940.
- <sup>38</sup> Prakash AS, Pereira TN, Smith BL, Shaw G, Seawright AA (1996) Mechanism of bracken fern carcinogenesis: evidence for H-ras activation via initial adenine alkylation by ptaquiloside. *Natural Toxins*, **4**, 221-227
- <sup>39</sup> Sardon D, de la Fuente I, Calonge E, Perez-Alenza MD, Castaño M et al. (2005) H-ras immunohistochemical expression and molecular analysis of urinary bladder lesions in grazing adult cattle exposed to bracken fern. *Journal of Comparative Pathology*, **132**, 195-201
- <sup>40</sup> Benjamin T, Vogt PK (1991) Cell transformation by viruses. In: *Fundamental Virology*, BN Field, DM Knipe, Eds., Raven Press, New York, pp. 291

- <sup>41</sup> Alonso-Amelot, M.E. and Oliveros, A.(2000): A method for the practical quantification and kinetic evaluation of cyanogenesis in plant material. Application to *Pteridium aquilinum* and *Passiflora capsularis*. *Phytochem. Anal.* **11**, 309-316.
- <sup>42</sup> Bonadies, F., Berardi, G., Nicoletti, R., Romolo, F.S., De Giovanni, F., Marabelli, R., Santoro, A., Raso C., Tagarelli A., Roperto, F., Russo V., Roperto, S. (2010): A new, very sensitive method of assessment of ptaquiloside, the major bracken carcinogen in the milk of farm animals, *Food Chemistry* **124**, pp.660-665
- <sup>43</sup> Pamukcu AM (1974) Tumours of the urinary bladder. *Bulletin of the World Health Organization*, **50**, 43-52
- <sup>44</sup> Smith, B.L. (2001): Bracken Fern (genus *Pteridium*) Toxicity- a global problem. In: Acamovic, T., Stewart, C.S. and Pennycott, T.W. eds: *Poisonous plants and related toxins*. Wallingford, Oxon UK: CABI Publishing 2004, p.229
- <sup>45</sup> Wang et al. (1984): Studies on experimental bovine bracken poisoning. *Acta Veterinaria et Zootechnica Sinica* **15**, 235-239.
- <sup>46</sup> Vetter, J. (2007): A biological hazard of our age: Bracken fern (*Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn) – A Review. *Acta Veterinaria Hungarica* **57**(1), pp. 183-196
- <sup>47</sup> S. Roperto, G. Borzacchiello, R. Brun, L. Leonardi, P. Maiolino, M. Martano, O. Paciello, S. Papparella, B. Restucci, V. Russo, G. Salvatore, C. Urraro and F. Roperto (2010): A review of bovine urothelial tumours and tumour-like lesions of the urinary bladder. *J.Comp. Path.*, Vol. **142**, 95-108.
- <sup>48</sup> Singh, R. P., Asrani, R. K., Gupa, V. K., Wadhawa, D. R. and Prasad, B. (1998): Histopathological studies on spontaneous chronic enzootic bovine hematuria in Himachal Pradesh. *Ind. Vet. J.* **75**, 982-984
- <sup>49</sup> Tripathi, S. C., Joshi H. C. and Maheshi, K. (1989): Blood chemical changes in experimental bracken fern induced haematuria in calves. *Ind. J. Anim. Sci.* **59**, 835-837.
- <sup>50</sup> Singh, R. P., Joshi, H. C. and Kumar, M. (1987): Experimental bracken fern toxicity in calves: changes in blood and urine. *Ind. J. Vet. Med.* **7**, 96-100.
- <sup>51</sup> Lioi, M. B., Barbieri, R., Borzachiello, G., Roperto, S., Santoro, A., Russo, V. and Roperto, F. (2004): Chromosome aberrations in cattle with chronic enzootic hematuria. *J. Comp. Pathol.* **131**, 233-236

- <sup>52</sup> Campo MS, Jarrett WFH, Barron RJ, O'Neil BW, Smith KT (1992) Association of bovine papillomavirus type 2 and bracken fern with bladder cancer in cattle. *Cancer Research*, **53**, 1-7.
- <sup>53</sup> Borzacchiello G, Russo V, Gentile F, Roperto F, Venuti A et al. (2006) Bovine papillomavirus E5 oncoprotein binds to the activated form of the platelet-derived growth factor  $\beta$  receptor in naturally occurring bovine urinary bladder tumours. *Oncogene*, **25**, 1251-1260.
- <sup>54</sup> Supryniewicz FA, Baege A, Sunitha I, Schlegel R (2002) c-Src activation by the E5 oncoprotein enables transformation independently of PDGF receptor activation. *Oncogene*, **21**, 1695-1706.
- <sup>55</sup> Sood S, Dawra RK, Sharma OP, Kurade NP (2003) Exposure to the fern *Onychium contiguum* causes increase in lipid peroxidation and alters antioxidant status in urinary bladder. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, **302**, pp.476-479
- <sup>56</sup> Borzacchiello, G., Ambrosio, V., Roperto, S., Poggiali, F., Tsirimonakis, E., Venuti, A., Campo, M.S. and Roperto, F. (2003) Bovine papillomavirus type 4 in oesophageal papillomas of cattle from the south of Italy. *Journal of Comparative Pathology* **128**, 203-206.
- <sup>57</sup> Souto MAM, Kommers GD, Barros CSL, Piazer JVM, Rech RR et al. (2006) Neoplasias do trato alimentar superior de bovinos associadas ao consumo espontâneo de samambaia (*Pteridium aquilinum*). *Pesquisa Veterinária Brasileira*, **26**, 112-122
- <sup>58</sup> Masuda, E.K., Kommers, G.D., Martins, T.B., Barros, C.S.L. and Piazer, J.V.M. (2011): Morphological Factors as Indicators of Malignancy of Squamous Cell Carcinomas in Cattle exposed naturally to Bracken Fern (*Pteridium aqu.*), *J.Comp. Path.*, Vol. **144**, pp. 48-54
- <sup>59</sup> Friedl P, Wolf K (2003) Tumour-cell invasion and migration: diversity and escape mechanisms. *Nature Reviews Cancer*, **3**, 362-374.
- <sup>60</sup> Anjos, B. L. Irigoyen, L. F. Piazer, J. V. M. Brum, J. S. Figuera, R. A. Barros, C. S. L.(2009): Experimental acute poisoning by bracken fern (*Pteridium aquilinum*) in cattl. *CAB Abstracts Pesquisa Veterinaria Brasileira*. **29**: 9, 753-766
- <sup>61</sup> Hirono I. Kono Y. Takahashi K. Yamada K. Niwa H. Ojika M. Kigoshi H. Niiyama K.

- Uosaki Y. (1984): Reproduction of acute bracken poisoning in a calf with ptaquiloside, a bracken constituent. Ovid MEDLINE(R) In-Process & Other Non-Indexed Citations and Ovid MEDLINE(R) Veterinary Record. **115(15)**, pp. 375-378
- <sup>62</sup> Watson, W.A., Barnett, K.C. and Terlecki, S. (1972): Progressive Retinal Degeneration (Bright Blindness) in Sheep: A review. The Veterinary Record Vol **91**, pp. 665-670.
- <sup>63</sup> Evans, W.C., Evans, I.A., Humphreys, D.J., Lewin, B. and Davies, W.E.J. (1975): Induction of thiamine deficiency in sheep, with lesions similar to those of cerebrocortical necrosis. Journal of Comparative Pathology **85**, 253.
- <sup>64</sup> Riet-Correa, F., Saures, M. P. and Mendez, M. del C. (1998): Intoxication of horses in Brazil. Ciencia Rural **28**, 715-722.
- <sup>65</sup> Smith, B.L. (2001): Bracken Fern (genus *Pteridium*) Toxicity- a global problem. In: Acamovic, T., Stewart, C.S. and Pennycott, T.W. eds: Poisonous plants and related toxins. Wallingford, Oxon UK: CABI Publishing 2004, p.228.
- <sup>66</sup> Evans, W.C., Widdop, B. and Harding, J.D.J. (1972): Experimental Poisoning by Bracken Rhizomes in pigs. The Veterinary Record **90**, pp471-475.
- <sup>67</sup> Edwards, B.L. (1983): Poisoning by *Pteridium aquilinum* in pregnant sows. The Veterinary Record **112**, 459-460
- <sup>68</sup> Evans, I.A. and Galpin, O.P. (1990): Bracken and Leukaemia. Lancet British Edition **335**, 231
- <sup>69</sup> Freitas, R.N., O'Connor, P. J., Prakash, A. S., Shahin, M. and Povey, A. C. (2001): Bracken (*Pteridium aquilinum*)-Induced DNA Adducts in Mouse Tissues Are Different from the Adduct Induced by the Activated Form of the Bracken Carcinogen Ptaquiloside. Biochemical and Biophysical Research Communications **281**, 589–594
- <sup>70</sup> Latorre, A., Furlan, M., Sakai, M., Fukumasu, H., Hueza, I., Haraguchi, M., Górnaiak, S. (2009): Immunomodulatory effects of *Pteridium aquilinum* on natural killer cell activity and select aspects of the cellular immune response of mice. J. Immunotoxicol, **6**, 104–114
- <sup>71</sup> Tjatur-Rasa, F. S., Saito, T. and Satok, H.(1999): The haemolytic activity of bracken extract in guinea pigs. J. Vet. Med. Sci. **61**, 129-133
- <sup>72</sup> Alonso-Amelot, M. E. and Avendano, M. (2002): Human Carcinogenesis and Bracken Fern: A Review of the Evidence. Current Medicinal Chemistry, **9**, pp. 675-686.



- <sup>73</sup> Hirono, I., Shibuya, C., Shimizu, M., Fushimi, K.(1972): National Cancer Inst., **48**, 1245.
- <sup>74</sup> Galpin, O. P., Whitaker, C. J., Withtaker, R., & Kassab, J. Y. (1990). Gastric cancer in Gwinedd. Possible link with bracken. British Journal of Cancer, **61**, 737–740.
- <sup>75</sup> Alonso- Amelot, M. E. and Avendano, M. (2001): Possible Association between gastric cancer and bracken fern in Venezuela: An epidemiologic study. Int. J. Cancer, **91**, pp. 252-259.
- <sup>76</sup> Evans, I. A., Jones, R.S., Mainwaring-Burton, R. (1972): Nature, **237**, p. 107
- <sup>77</sup> Alonso- Amelot, M. E., Castello, U., Smith B.L., Lauren, D. R., (1996): Nature, **382**, p. 587
- <sup>78</sup> Alonso- Amelot, M. E., Castello, U., Smith B.L., Lauren, D. R., (1998): Lait, **78**, p.413
- <sup>79</sup> Latorre, A.O., Caniceiro, B.D., Wysocki, H.L., Haraguchi, M., Gardner, D.R., Górnaiak, S.L. (2011): Selenium reverses Pteridium aquilinum-induced immunotoxic effects. Food and Chemical Toxicology **49**, 464–470



Copyright declaration

**DECLARATION  
about the thesis**

I, .....

student of .....

**declare that my thesis entitled**

.....

is the result of my own work. I agree that – retaining the copy rights of the thesis – interested parties may use the printed version of my thesis in the Veterinary Science Library, Szent Istvan University and its electronic version in the university's repository with the following conditions (please, underline):

**Printed format**      may be copied: in part / completely

**Electronic**            may be displayed/downloaded:  
on the university internet/freely on the internet

Date .....

Signature .....