

86-1

Reg. No. 079066869

Universidad de Guadalajara

Facultad de Ciencias Biológicas



Alteraciones Histopatológicas en Estomago, Hígado,
Peyuno y Riñones de Ratas por la Administración
Oral del Extracto Metanólico de Senecio guadalajarensis

Tesis Profesional

Para obtener el Título de:

Licenciado en Biología

Presenta:

Maricruz Rivera Fernández

Guadalajara, Jalisco. 1990.

UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

FACULTAD DE CIENCIAS

BIOLOGICAS

ALTERACIONES HISTOPATOLOGICAS EN ESTOMAGO, YEYUNO, HIGADO
Y RIÑONES DE RATAS POR LA ADMINISTRACION ORAL DEL EXTRACTO
METANOLICO DE Senecio guadalajarensis.

TESIS PROFESIONAL QUE PARA
OBTENER EL TITULO DE:
LICENCIADO EN BIOLOGIA
PRESENTA:
MARICRUZ RIVERA FERNANDEZ.

DR. CARLOS ALEJANDRO HERNANDEZ GONZALEZ

M EN C. JOAQUIN GARCIA ESTRADA

M EN C. ESTHER ALBARRAN RODRIGUEZ

GRACIAS POR LA ASESORIA, CONFIANZA Y APOYO
BRINDADO PARA LA REALIZACION DE ESTA TESIS.

M EN C. MARIA DEL REFUGIO MORA NAVARRO

DIRECTOR DE TESIS

CON MUCHO RESPETO Y CARIÑO DEDICO ESTA TESIS
A LA MAESTRA; EN MI TIEMPO DE ESTUDIANTE

Y

A LA AMIGA QUE HA SIDO DURANTE TODO ESTE TIEMPO

GRACIAS.

A MIS PADRES

AGRADESCO SU INFINITO AMOR, APOYO Y COMPRENSION
QUE ME HAN BRINDADO PARA PODER REALIZAR MIS METAS Y ESTA QUE
ES LA MAS TRASCENDENTE.

A MIS HERMANOS Y ESPOSAS

QUE EL CARIÑO PERDURE A PESAR DE LAS DISTANCIAS

A MIS HIJOS

MANUEL ALFREDO Y CARLOS ALEJANDRO

OJALA EL AMOR QUE LES PROFESO AHORA Y SIEMPRE
SEA CORRESPONDIDO COMO HOY YO LES CORRESPONDO A MIS PADRES
QUE VEN REALIZAR UNO DE MIS MAYORES DESEOS COMO CULMINACION
DE SUS ANHELOS PARA MI FORMACION PROFESIONAL

G R A C I A S

I N D I C E

I.-	RESUMEN	
II.-	INTRODUCCION	1
III.-	JUSTIFICACION	5
IV.-	HIPOTESIS	6
V.-	OBJETIVOS	7
VI.-	MATERIALES Y METODOS	8
VII.-	RESULTADOS	12
VIII.-	DISCUSION	28
IX.-	CONCLUSIONES	33
X.-	RECOMENDACIONES	34
XI.-	BIBLIOGRAFIA	35

RESUMEN

Numerosas especies del género *Senecio* contienen alcaloides pirrolicidinas con diferente toxicidad en distintas especies animales, estas plantas abundan en zonas templadas. *Senecio quadalajarensis* (clarincillo) causa la muerte de bovinos y ocasionalmente de humanos. Para estudiar la dinámica de la intoxicación se realizó un estudio mediante la administración oral del extracto metanólico, del que se aislaron 12.08 gr/100 gr de la planta desecada, este contenía 0.478 % de alcaloides. 25 ratas machos Swiss-Wistar se dividieron en 5 grupos de 5 animales; controles de agua destilada y vehículo (propilenglicol-etanol-agua) y experimentales que recibieron diariamente 0.80, 1.61 o 2.41 gr del extracto/kg de peso. A partir del día 16 se duplicó la dosis que se suministró hasta las primeras muertes de los animales que ocurrieron el día 19, se sacrificaron todas las ratas y se pesaron estómago, intestino delgado, hígado y riñones, y se obtuvieron muestras para estudio histopatológico, del intestino delgado se seleccionó el yeyuno. No hubo diferencias del peso corporal en los primeros 15 días del estudio, del día 16 al 19 se redujo el peso corporal en los 3 grupos experimentales ($P < 0.01$) sin que se encontraran diferencias entre el peso de los órganos. Los tejidos control no revelaron lesiones, en los experimentales se identificó una relación directa entre la severidad de las lesiones y la dosis total acumulada del extracto, el hígado fue el órgano más afectado, al parecer sucedieron alteraciones inflamatorias con trastornos vasculares permanentes, seguidas de tumefacción turbia y necrosis de extensión variable. Los riñones sufrieron cambios semejantes pero de menor severidad, en el estómago y yeyuno se produjo inflamación con respuesta linfocitaria en este último. La dosis letal acumulada fue de 55.568 gr/kg de peso. Las alteraciones tisulares observadas sugieren intoxicación progresiva que afectó principalmente al hígado y riñones sin que se produjera tolerancia a los tóxicos circulantes.

INTRODUCCION

Una de las preocupaciones de la ganadería es la pérdida de animales por el consumo de plantas tóxicas, las que tienen una amplia distribución mundial y en su mayoría pertenecen a 3 familias: Boraginaceae, Compositae y leguminosae (1).

El género Senecio, pertenece a la familia Compositae; en éste se han encontrado compuestos alcaloides pirrolicidinas (AP), son bases nitrogenadas esterificadas, altamente hepatotóxicas y carcinogénicas (1,2). Los AP se absorben y metabolizan a pirroles en la zona centrolobulillar hepática donde existen enzimas específicas para éstos. Los mecanismos de depuración pueden ser; hidrólisis, deshidratación o N-oxidación, y en forma secundaria hidroxilación y epoxidación (1).

Diferentes especies de Senecio son principalmente tóxicas para bovinos (3-5) y equinos (6), Senecio jacobaea tiene su habitat en áreas templadas, es abundante en Australia, Nueva Zelanda, América del Sur, Africa, Oeste de Europa y Norte América; S. vulgaris se encuentra en Canadá y América del Sur; S. brasilensis en Brasil y Argentina (1). Además existen otras especies de menor importancia que han sido muy poco estudiadas como S. lautus (7), S. alpinus (8), S. vernalis (9), S. pierotti (10) y S. congestus (11) entre otras.

De estas especies se han estudiado aspectos bioquímicos como; aislamiento e identificación de diferentes alcaloides pirrolicidinas (AP), para su extracción se han ensayado distintos solventes orgánicos, el metanol logra concentrar el mayor número de AP (8-13).

Se han realizado estudios histopatológicos en diferentes especies de animales intoxicados por Senecio jacobaea (especie más estudiada) (6,14-18) y S. lautus (3-7).

Los animales más afectados, naturalmente expuestos al consumo de Senecio jacobaea son los bovinos (4) y equinos (6) y los más resistentes las cabras (14) y ovejas (15). Los animales de laboratorio más susceptibles a los efectos tóxicos de los alcaloides pirrolicidinas (AP) son las ratas (3,16), ratones y hamsters, mientras que los menos afectados son los conejos (3,17), cobayos y codornices; se ha demostrado que las especies que poseen mayor capacidad de sintetizar pirroles son más susceptibles a la toxicidad de los AP, las de baja capacidad muestran mayor resistencia (3).

La dosis letal de Senecio jacobaea consumida en base húmeda/kg de peso corporal para ratón es de 1.5 kg (3), rata 0.2 kg en base seca (20 % del peso corporal) (16), bovinos 0.14 kg (4), cabras 1.2 kg (14) y para ovejas es mayor de 2.0 kg (15), por lo que estas dos últimas especies se recomiendan como control biológico de la planta (14-18).

En la necropsia de bovinos intoxicados por S. jacobaea se ha observado fibrosis hepática, agrandamiento de la vesícula biliar y edema del tracto gastrointestinal (4), en ratas se produjo agrandamiento del bazo con hiperplasia linfoide e incremento de la actividad hematopoyética, ascitis, hidrotórax y necrosis hepática (16), también aumenta la concentración hepática de cobre y se trastorna el metabolismo del hierro (19). En bovinos intoxicados por S. lautus, la principal lesión consistió de fibrosis y necro-

sis de hepatocitos (7).

Por otra parte, también se han encontrado daños histopatológicos en becerros y ratas experimentales intoxicadas con leche de cabras previamente expuestas al consumo de S. jacobaea, sobresaliendo la fibrosis y necrosis hepática como resultado de la presencia de alcaloides pirrolicidinas (AP) que conservan la capacidad de producir efectos hepatotóxicos (20,21).

En México se ha reportado la pérdida de ganado por la ingestión de plantas del género Senecio (22); como S. salignus, que se localiza en la zona centro del país, dicha maleza también resulta tóxica para el hombre, debido a su uso por yerberos en la medicina popular (23).

En el estado de Jalisco, en la Sierra de Manantlán se encuentra una planta principalmente tóxica para bovinos, conocida como "clarincillo" e identificada como Senecio guadalajarensis por B. L. Rob (24). Esta crece entre los pastos comestibles para el ganado y es ingerida accidentalmente cuando mide de 10 a 15 cm (junio y julio), posteriormente es reconocida y evitada por los bovinos (25).

Para conocer los efectos tóxicos de la planta S. guadalajarensis, se realizó un estudio toxicológico en ratas que recibieron oralmente el hidrolizado a una dosis total acumulada de 6000 mg/kg de peso corporal sin que se produjeran efectos letales, sin embargo se presentaron lesiones en hígado y riñones, en el primero; tumefacción turbia, necrosis y depósitos linfocitarios abundantes. En los riñones se produjo necrosis tubular focal a nivel proximal y distal. Estas lesiones sugieren una respuesta de hiper

sensibilidad tardía por la presencia de alguna fracción de cada uno de los compuestos tóxicos que pudieron ser alcaloides _ (25).

En base a lo anterior y por la importancia que tiene el estudio de plantas tóxicas, en el presente trabajo se analizaron los efectos en ratas por el extracto obtenido con metanol - (fracción liposoluble) de S. guadalajarensis después de la administración oral repetida, con la intención de establecer los niveles de toxicidad y el mecanismo de lesión para estudios toxicológicos posteriores con esta planta, orientados a evitar _ sus efectos letales.

JUSTIFICACION

Se ha reportado que la planta conocida como "Clarincillo", (Senecio guadalajarensis) es altamente tóxica para los bovinos, en equinos provoca efectos menos severos. La muerte de estas especies ocasiona una importante pérdida económica. Otras especies de Senecio causan intoxicación indirecta en el hombre, sobre todo después de exposición prolongada por el uso de estas plantas para propósitos medicinales o por el consumo de productos derivados de animales que los hayan ingerido. Debido a que en la actualidad son escasos los estudios de la especie S. guadalajarensis, se emprendió el presente trabajo en el que se realizó un análisis químico cuantitativo de los alcaloides presentes en la planta y un ensayo toxicológico para identificar los efectos en ratas por la administración oral del extracto metanólico de S. guadalajarensis mediante estudio histopatológico del estómago, yeyuno, hígado y riñones.

HIPOTESIS

El extracto metanólico de Senecio guadalajarensis contiene alcaloides que provocan intoxicación letal en ratas después de la administración oral repetida.

OBJETIVO GENERAL

Estudiar los cambios histológicos en estómago, yeyuno, hígado _
y riñones de ratas sometidas a la exposición oral prolongada del _
extracto metanólico de Senecio guadalajarensis.

OBJETIVOS PARTICULARES

- 1.- Determinar la presencia de alcaloides totales en la planta _
(S. guadalajarensis) antes y después del tratamiento de extrac-
ción con metanol.
- 2.- Realizar necropsia de los animales dosificados con el extrac-
to de S. guadalajarensis muertos durante el experimento y de _
todas las ratas controles y experimentales al finalizar el es-
tudio.
- 3.- Analizar histopatológicamente estómago, yeyuno, hígado y riño-
nes de los animales control y los que recibieron el extracto _
en diferentes dosis.
- 4.- Determinar el porcentaje de mortalidad en cada uno de los gru-
pos experimentales.

MATERIALES Y METODOS

Se realizó la colecta de plantas Senecio guadalajarensis de _
menos de un metro de altura en el mes de Agosto de 1989 en la re-
gión Noroeste de la Sierra de Manantlán Jalisco.

A) OBTENCION DEL EXTRACTO

- 1.- La planta fué secada al sol, triturada en un molino Koblenz,
y homogeneizada en molino de cuchillas Willey de 1/4 hp con_
criba de 0.5 mm.
- 2.- Se pesaron 2 g de la muestra seca y molida en una balanza a-
nalítica Metler y se introdujo en un cartucho de extracción.
- 3.- El cartucho se colocó dentro del condensador de reflujo y se
adicionó el metanol suficiente para mantenerse en ebullición
en un equipo Soxhlet durante 3 h.
- 4.- Se recuperó el solvente y el extracto se almacenó en un ma -
traz Erlenmeyer, el que posteriormente fué puesto en una es-
tufa a temperatura de 50°C por 24 h para eliminar por evapo-
ración el exceso de solvente.
- 5.- Finalmente, el extracto metanólico de consistencia oleosa _
fué conservado en congelación a -60°C.

B) ANALISIS CUANTITATIVO

ALCALOIDES TOTALES: Método de Cundiff-Markunas (26)

Reactivos:

- a) Solución de benceno-cloroformo en volúmenes iguales.
- b) Solución de hidróxido de sodio (NaOH) al 36 %: se disolvie -
ron 500 g de NaOH en agua y se completó a un litro.
- c) Acido acético (CH_3COOH) diluido al 5 %; 50 ml de CH_3COOH en _

950 ml de agua.

- d) Indicador de cristal violeta; 0.5 g de cristal violeta se disolvieron en 100 ml de CH_3COOH .
- e) Solución estandar de ácido perclórico (HClO_4) 0.025 N; 4.7 ml de HClO_4 al 72 % y 2.26 kg de CH_3COOH se adicionaron a una botella para mezclarse. Titulación de ácido perclórico: se pesaron 0.1 g de ftalato de potasio hidrogenado ($\text{KH C}_8\text{H}_4\text{O}_4$) en un matraz Erlenmeyer de 125 ml y se adicionaron 50 ml de CH_3COOH para calentarse y posteriormente disolverse. Se dejó enfriar para adicionarle dos gotas de indicador violeta para titularlo a un punto final azul-verde. La titulación en blanco se realizó en 50 ml de CH_3COOH y dos gotas de solución indicadora para corregir el volumen titulado..

$$N = \frac{\text{peso k h ftalato} \times 4.896}{\text{ml } \text{HClO}_4}$$

DETERMINACION

Se pesaron 2.5 g de la muestra desecada y triturada, y 2.5 g después del arrastre con el solvente. Ambas se colocaron separadamente en un matraz Erlenmeyer de 250 ml y se les adicionó 15 ml de CH_3COOH al 5 %, el matraz se agitó hasta que la planta quedó impregnada. Posteriormente se pipetearon 100 ml de la solución benceno-cloroformo en el matraz, se agregaron 10 ml solución NaOH al 36 %, se tapó el matraz herméticamente agitándose 20 min, se adicionaron 4.5 a 5 g de celulosa en un embudo Buschner para filtrarse, repitiéndose la filtración con filtro Whatman No 2.

Se pipetearon 25 ml del filtrado en un matraz Erlenmeyer de

125 ml, después se oxigenó la superficie del matraz durante 5 min, y se adicionaron dos gotas de indicador para titularlo a un punto final de color verde con 0.025 N de HClO_4 .

$$\% \text{ total de alcaloides} = \frac{V_1 \times N \times 32.45}{\text{peso de la muestra}}$$

N = normalidad

V₁ = volumen titulado

C) ENSAYO TOXICOLOGICO

Se utilizaron 25 ratas machos de la cepa Swiss-Wistar de 70 días de edad con peso promedio de 167 ± 7 g, mantenidas en condiciones de bioterio con ciclos de 12 h luz - 12 h oscuridad alimentadas con Nutricubos (Purina) y agua a libre acceso. Los animales fueron divididos en 5 grupos de 5 ratas cada uno.

Los dos primeros (I,II) fueron el control y control vehículo que respectivamente recibieron por vía oral y a través de una cánula gástrica, 2 ml de agua destilada o 2 ml del vehículo (propilenglicol-etanol-agua 1:1:1), diariamente por 15 días.

A los tres grupos restantes experimentales (III,IV,V) se suministró extracto de Senecio quadalajarensis de la misma forma y por el mismo período de tiempo, disuelto en el vehículo señalado en un volumen final de 2.5 ml a dosis de 0.8053, 1.6106 o 2.4160 g/kg de peso corporal, ésta se ajustó en base al registro del peso diario. Al término del primer período de administración de 15 días se modificó a 2.5 ml el volumen diario que recibieron los animales control y control vehículo, mientras que en los tres grupos experimentales restantes se duplicaron las dosis originales, que se disolvieron en 2.5 ml del vehículo para alcanzar un volu -

men no mayor a 3 ml de la mezcla, ésta se suministró diariamente hasta que se produjeron las primeras muertes de los animales, entonces se suspendió la administración de agua destilada y vehículo en los controles y se sacrificaron por sobredosis anestésica con cloroformo, lo mismo se hizo con las ratas sobrevivientes del tratamiento con el extracto. Se realizó la necropsia de los animales control, control vehículo y de todos los experimentales seleccionando para estudio microscópico las áreas que mostraron lesiones anatomopatológicas. En todos los animales se practicó una laparotomía media abdominal para separar el estómago, intestino delgado, hígado y riñones. Los órganos fueron pesados antes de fijarse completos en solución Bouin (27) por 24 h para luego obtener fragmentos de 1 cm³ de cada uno de éstos, se deshidrataron en series crecientes de etanol y mezclas de etanol-xilol, se incluyeron en parafina y se obtuvieron cortes de 3 a 5 µm de espesor en un Microtomo American Optical SL-20. Los cortes se tiñeron con Hematoxilina-Eosina para su estudio descriptivo al microscopio de luz (Zeiss) y finalmente se tomaron fotomicrografías de las áreas más representativas.

De los pesos corporales y de los órganos en cada uno de los períodos de administración, se realizó un análisis estadístico de covarianza y varianza aleatorizada respectivamente a un nivel de significancia $P < 0.01$ (28).

Nota.- Debido a que no se murió ningún animal en los primeros 15 días y empezaron a manifestarse signos de depresión generalizada en el grupo que recibió la máxima dosis, se decidió duplicar las dosis y finalizar el estudio hasta que sucedieron las primeras muertes.

RESULTADOS

A) CUANTIFICACION DE ALCALOIDES TOTALES

Porcentaje de alcaloides totales de Senecio guadalajarensis por _
cada 100 g de la planta seca:

a) Planta no sometida a extracción con metanol

0.54 % de alcaloides

b) Planta sometida a extracción con metanol

0.062 % de alcaloides

De los datos anteriores se concluye que por cada 100 g de la _
planta desecada resultan 12.08 g del extracto metanólico, y en _
éste está presente un 0.478 % de alcaloides

B) PESO CORPORAL Y DE ORGANOS

El peso promedio inicial de los animales al empezar el experi
mento fué de 167 ± 7 g, después de 16 días se registró un aumento
del 30.63 % en los que recibieron agua destilada, de 29.74 % en _
el grupo dosificado con el vehículo y 18.81 % en las ratas con _
la mínima dosis del extracto. Los grupos que recibieron las dosis
media y máxima mostraron un incremento del peso corporal de 18.20
y 16.58 % respectivamente sin que hubiera diferencias significati
vas entre todos estos animales ($P > 0.01$).

A partir del día 16 y hasta el día 19 en que finalizó el estu
dio el grupo control (I) alcanzó el mayor peso corporal (229.06g)
con un incremento de 2.73 %, el segundo control aumentó un 3.48%.
Por el contrario, todas las ratas experimentales sufrieron reduc
ción del peso corporal de 2.77, 3.68 y 6.60 % en los animales que
recibieron las dosis mínima, media y máxima del extracto de S. qua

dalajarensis respectivamente, no se encontraron diferencias significativas entre ambos controles, pero éstos difirieron de todos los experimentales ($P < 0.01$), (Cuadro 1).

El menor peso ajustado (*) al finalizar el estudio correspondió al grupo V (191.20 g) y el mayor al grupo control vehículo (210.07 g), (Cuadro 1).

Entre los pesos de órganos de los animales experimentales y controles no se encontraron diferencias ($P > 0.01$), (Cuadro 2), con excepción del estómago, cuya variabilidad se debió al contenido presente al momento del sacrificio o de la muerte espontánea de los animales.

C) ENSAYO TOXICOLOGICO

Respuesta de los animales durante el estudio:

Las ratas control agua destilada o vehículo no modificaron el consumo de alimento, agua, ni su comportamiento a través del estudio. Durante los primeros 15 días, las correspondientes a los grupos experimentales III y IV, consumieron alimento y agua en forma normal, mientras que las del grupo V presentaron astenia e hiporexia a partir de los días 14 y 15. En los últimos días de dosificación con la concentración duplicada del extracto, (Cuadro 3) todas las ratas experimentales redujeron su consumo de alimento y agua. En el grupo III los animales comenzaron a presentar astenia e hiporexia a partir del día 18, las ratas del grupo IV presentan astenia e hiporexia a partir del día 17 y las del grupo V en los días 18 y 19 presentaron adinamia, anorexia total, pérdida de

(*) Nota.- Peso ajustado; obtenido por un análisis de covarianza mediante la prueba ajuste de promedios.

peso y finalmente murieron con las siguientes manifestaciones ante mortem:

- Postración
- Dificultad para respirar (disnea)
- Distensión abdominal
- Hipotermia absoluta
- Deshidratación moderada
- Extremidades flácidas

Descripción anatomopatológica en la necropsia de ratas control y experimentales:

Los órganos examinados provenientes de las ratas control (grupos I y II) revelaron un aspecto normal.

Grupo III experimental

Estómago; presentó congestión, material mucoide, pérdida de la mucosa a nivel del cuerpo.

Hígado; la superficie externa fué de color rojo vinoso de apariencia granulosa. Al corte se observaron áreas de color negrusco.

Riñones; la superficie externa fué de color grisácea, lisa y brillante. Al corte se observaron áreas de color negrusco, la corteza y médula sin alteraciones macroscópicas.

Yeyuno; la serosa fué de color café claro alternando con áreas amarillentas. Al corte la mucosa se encontró conservada.

Grupo IV experimental

Se observaron las mismas lesiones que en el grupo anterior, pero más notorias por su severidad.

Grupo V experimental

Las lesiones fueron similares a las del grupo III, pero más severas y abarcando un área mayor. En yeyuno se observó congestión y hemorragias petequiales en la superficie luminal de la pared, placas de Peyer aumentadas de tamaño y exudado mucoide sanguinolento.

Estudio histopatológico:

Animales control

En el estómago se distinguieron claramente las diferentes capas de la pared, así como la zona glandular bastante desarrollada (Fig. 1). El aspecto del yeyuno fué también normal, se muestra una vellosidad intestinal yeyunal a mediana amplificación donde pueden distinguirse los elementos que componen la mucosa, así como las características distintivas de la población celular de revestimiento epitelial en contacto con el lumen intestinal (Fig. 5).

En el hígado se aprecia el arreglo parenquimatoso del tejido con definición precisa de los límites sinusoidales, células de Kupffer y cordones irregulares de hepatocitos con núcleos prominentes vesiculares. El sistema vascular mostró el endotelio de revestimiento de aspecto normal (Fig. 9). La corteza renal reveló glómerulos abundantes con espacio de Bowman bien delimitado circundando el penacho glomerular, así como túbulos proximales y distales con el lumen permeable. En las zonas profundas renales las pirámides y rayos medulares no revelaron alteraciones (Fig. 13).

En las muestras de los animales que recibieron el vehículo los tejidos estudiados manifestaron como principales alteraciones congestión vascular y edema (Figs. 2,6,10,14).

Resultó evidente que la severidad de las alteraciones aumentó en relación directa con la dosis total acumulada al final de los experimentos.

En el grupo III observamos en estómago; congestión y edema de la submucosa, atrofia y pérdida de la mucosa en algunas áreas, proliferación glandular (Fig. 3). Yeyuno; congestión y edema de la sub

mucosa e hiperplasia de los folículos linfoides, agregándose proceso linfomatoso (Fig. 7). Hígado; congestión vascular y edema sinusoidal, necrosis parcelar, tumefacción turbia. Riñones; congestión vascular y congestión intercapilar presentando necrosis tubular.

En el grupo IV observamos en estómago atrofia y pérdida de la mucosa en algunas áreas, proliferación glandular (Fig. 4). En yeyuno proceso linfomatoso, necrosis hemorrágica en hígado (Fig. 11), en riñones necrosis hemorrágica cortical (Fig. 15), agregándose coagulación intravascular en todos los órganos examinados.

Los tejidos del grupo V presentaron coagulación intravascular en todos los órganos examinados, proceso linfomatoide en yeyuno (Fig. 8), en hígado atrofia de las células de Kupffer y necrosis hemorrágica (Fig. 12), en riñones necrosis tubular y glomerular con pérdida de la capsula de Bowman (Fig. 16). En este grupo se presentó el 100 % de mortalidad al término de la segunda fase experimental. Al momento de concluir los experimentos sobrevivie ron los animales experimentales que recibieron las dosis mínima, y media, sin embargo, en éstos se empezaron a manifestar signos clínicos semejantes a los de los animales muertos del grupo V.

CUADRO No. 1

CAMBIOS EN EL PESO CORPORAL DE RATAS CONTROL Y EXPERIMENTALES DE 1- 16 DIAS
Y DE 16-19 DIAS DEL ESTUDIO.

GRUPOS n (S)	* PESO INICIAL (g) 1er. día	* PESO (g) 16 días	PESO FINAL (g) 19 días	PESO AJUSTADO Y SIGNIFICANCIA
I Control Aqua destilada	170.68	222.96	229.06	208.36 a
II Control Vehiculo	168.24	218.28	225.30	210.07 a
III Experimental Minima dosis	163.06	193.74	188.36	197.94 b
IV Experimental Dosis media	177.52	209.83	202.09	195.01 b
V Experimental Maxima dosis	160.52	187.14	174.78	191.20 b

* 1-16 días no hubo diferencia significativa entre grupos control
y experimentales

(a,b) Indican diferencia significativa entre grupos del día 16-19
(P < 0.01).

CUADRO No. 2

PESO DE LOS ORGANOS (g) DE RATAS CONTROL Y EXPERIMENTALES
AL FINALIZAR EL ESTUDIO

GRUPOS n (5)	ESTOMAGO		INT. DELGADO		HIGADO		RINONES	
	X	D.E.	X	D.E.	X	D.E.	X	D.E.
I Control Agua destilada	3.37 ± 0.895		8.66 ± 1.595		13.0 ± 1.598		2.36 ± 0.362	
II Control Vehiculo	5.33 ± 2.33		9.00 ± 1.124		12.7 ± 0.717		2.15 ± 0.07	
III Experimental Minima dosis	7.49 ± 3.206		7.82 ± 1.778		11.27 ± 2.68		2.27 ± 0.48	
IV Experimental Dosis media	7.57 ± 2.33		7.36 ± 2.983		9.76 ± 4.25		2.06 ± 0.403	
V Experimental Máxima dosis	8.02 ± 3.542		8.26 ± 2.220		10.08 ± 2.02		2.17 ± 0.366	

No hubo diferencias significativas P > 0.01

CUADRO No. 3

DOSIS ORAL DEL EXTRACTO DE *Senecio guadalajarensis* SUMINISTRADA
EN LOS DOS PERIODOS EXPERIMENTALES.

!(%) PLANTA BASE SECA/PESO CORPORAL!				
! GRUPOS !	!g del extracto/ !	!Primer periodo! !	! Segundo periodo !	!Dosis total !
! n (5) !	!kg de peso/día !	! 1 a 15 días !	! 16 a 19 días !	! acumulada gr !
! III Experimental !		! 10 !	! 20 !	! 18.5219 !
! Mínima dosis !	! 0.8053 !			
! IV Experimental !		! 20 !	! 40 !	! 37.0438 !
! Dosis media !	! 1.6106 !			
! V Experimental !		! 30 !	! 60 !	! * 55.568 !
! Máxima dosis !	! 2.4160 !			

* Dosis letal acumulada.

Figura 1

Se muestra una fotomicrografía a baja amplificación de la porción glandular del estómago de una rata sacrificada del grupo control que recibió agua destilada por vía oral durante todo el estudio. Se distingue la mucosa gástrica (**mg**), de aspecto columnar ampliamente desarrollada, así como la muscularis mucosae (\uparrow) con cierto desarreglo pero de aspecto normal, asimismo se observa la submucosa (**sm**) de características normales. En el extremo derecho de la imagen se observa la disposición de músculo liso (**m**) que compone la pared gástrica, H/E, 120 x.

Figura 2

Se muestra una región análoga a la anterior perteneciente a un corte de rata sacrificada del grupo control vehículo, donde se aprecia edema de la mucosa (**em**), en la parte inferior se distingue la submucosa (**sm**) y parte de la muscular (**m**), H/E, 130 x.

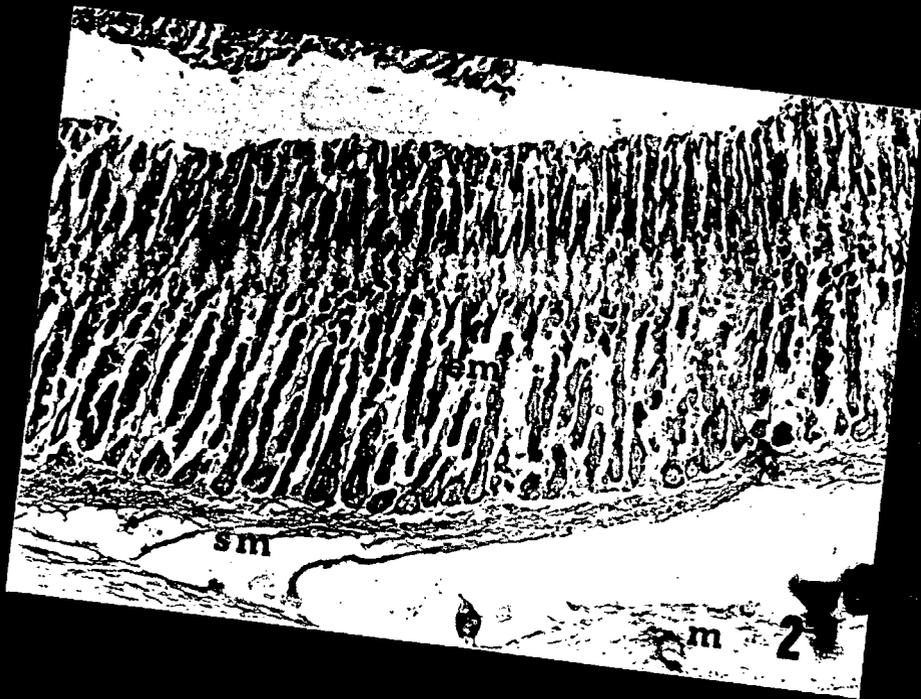


Figura 3

Se muestra un corte del espesor completo de la pared del estómago de una rata que fué sacrificada y perteneciente al grupo dosificado con la menor concentración del extracto, donde se distingue ligero edema submucoso (**es**) y proliferación glandular (**▼**). En el ángulo superior derecho se observan residuos alimenticios del lumen estomacal (**|**), H/E, 110 x.

Figura 4. Grupo suministrado con la dosis intermedia del extracto. A mayor amplificación se muestra la misma región anteriormente descrita perteneciente a una rata sacrificada en donde se observa con más claridad el edema de la mucosa (**em**) y submucosa (**es**) además de proliferación glandular (**▼**). Estas alteraciones se observaron respectivamente con mayor intensidad en el grupo dosificado con la dosis máxima del extracto, H/E 140 x.

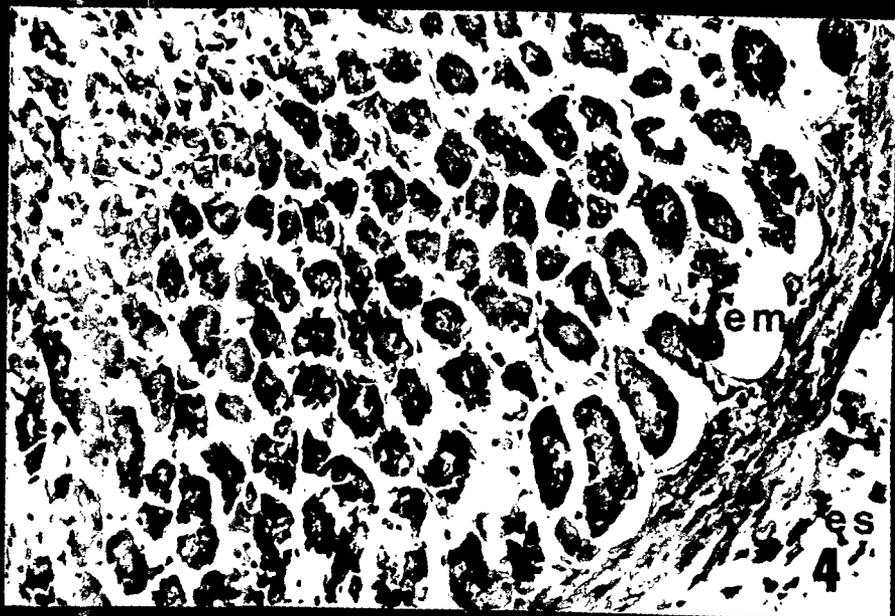
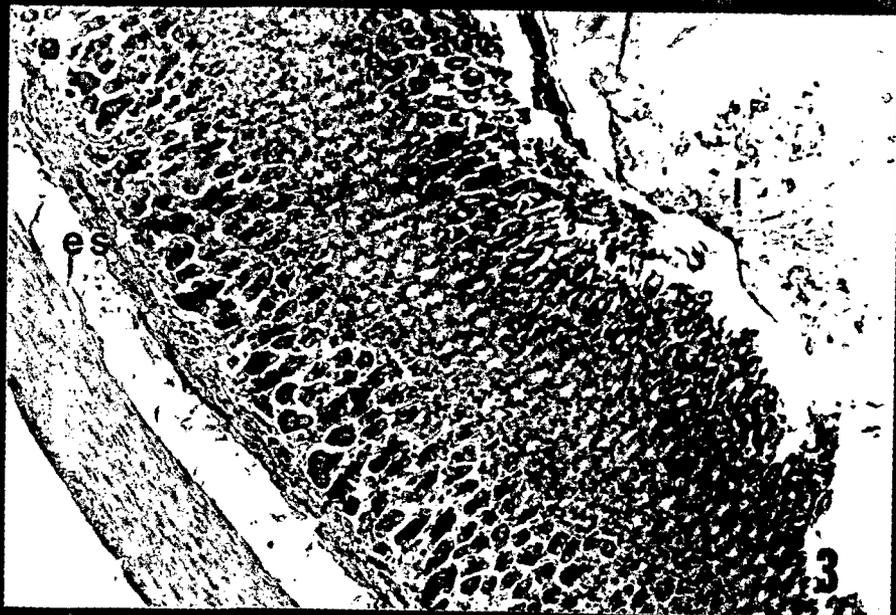


Figura 5

Fotomicrografía de mediana amplificación del yeyuno de una rata sacrificada del grupo agua destilada. Las vellosidades intestinales (**vi**) muestran su aspecto típico y en las partes más profundas se distinguen las zonas proliferativas de las criptas (**c**), en el extremo derecho se observa un arreglo transversal de músculo liso (**m**), H/E, 140 x.

Figura 6

A menor amplificación se muestra un segmento de yeyuno de un animal sacrificado del grupo control vehículo, donde se observa edema de la mucosa (**em**) y submucosa (**es**), H/E, 120 x.



Figura 7. Grupo que recibió la menor dosis del extracto.

Se muestra el espesor de la pared de yeyuno de rata _
sacrificada. Se observa ligero edema de la submucosa _
(**es**), así como proliferación abundante de las criptas o
glándulas de Liberkühn (**▼**). Se distingue también un _
proceso linfomatoso bastante evidente en una vellosidad_
(**★**), H/E, 110 x.

Figura 8

Fotomicrografía del yeyuno de una rata que murió es -
pontaneamente perteneciente al grupo dosificado con la _
máxima concentración del extracto. Se observan células _
indiferenciadas con núcleos vesiculares prominentes de _
aspecto linfomatoide (**★**). Algunos núcleos _
del tejido linfoide muestran aspecto neoplásico (**▼**) _
evidente por la marginación del nucleolo, la presencia _
abundante de heterocromatina y su gran tamaño, H/E, _
260 x.

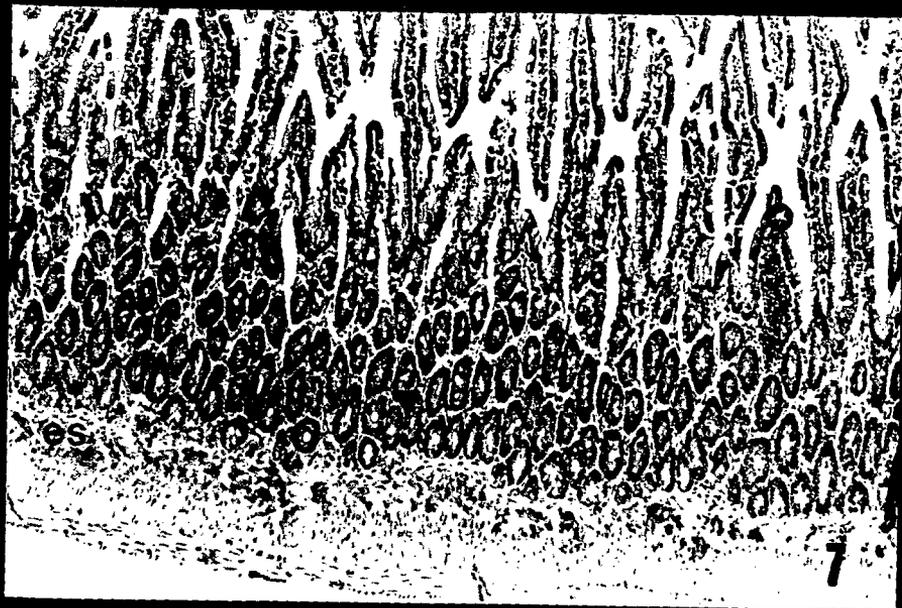


Figura 9. Grupo control dosificado con agua destilada.

Fotomicrografía a mediana amplificación del hígado de una rata sacrificada, donde el arreglo parenquimatoso del órgano muestra su aspecto típico (+) y en el centro se aprecia la vena centrolobulillar (**vc**). Los hepatocitos permiten delinear claramente los espacios sinusoidales donde se distinguen las células de Kupffer (↑), H/E, 180 x.

Figura 10

Fragmento hepático de un animal sacrificado perteneciente al grupo control vehículo, donde se observa degeneración vacuolar del espacio citoplasmático de los hepatocitos (↑) que afectó también el espacio sinusoidal. Se distingue también una vena centrolobulillar colapsada (▲), H/E, 130 x.

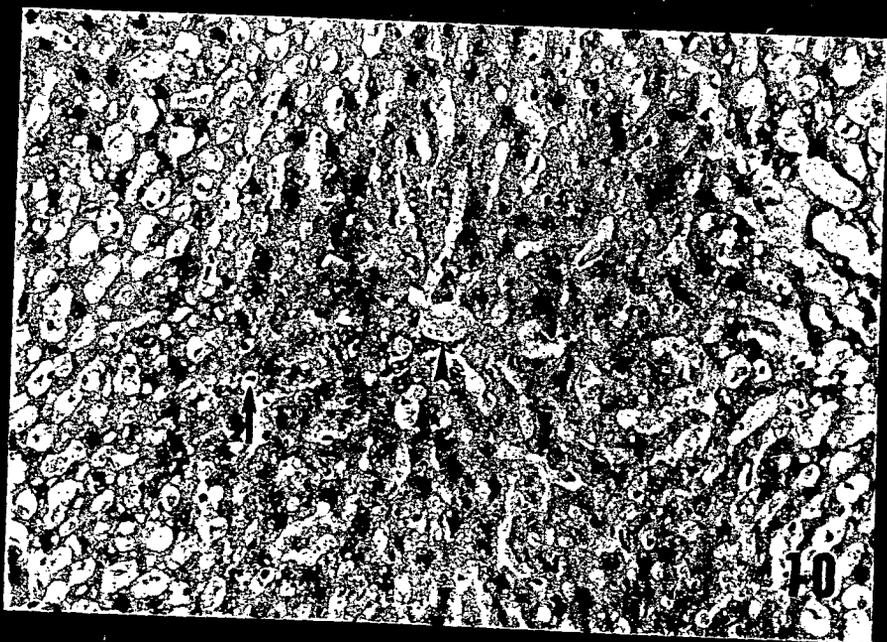
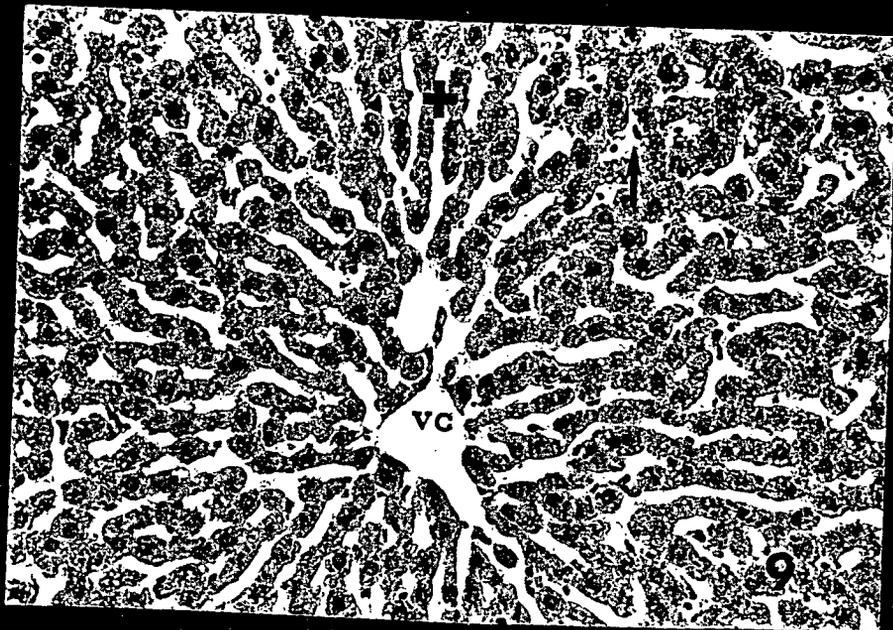


Figura 11. Grupo que recibió la dosis media del extracto.

Fotomicrografía del hígado de una rata sacrificada, donde se observa edema intersticial (**se**) y necrosis parcial (**np**), así como infiltrado inflamatorio de mononucleares (\square) y coagulación intravascular (\blacktriangle), H/E, 120 x.

Figura 12

Imágen correspondiente a un animal que murió espontáneamente perteneciente al grupo dosificado con la concentración máxima del extracto. Se observa licuefacción completa de organelos citoplasmáticos y hepatocitos en distintos estadios degenerativos correspondientes a necrosis hemorrágica con pérdida del patrón histológico casi en su totalidad (*****). En el centro se distingue la vena centrolobulillar (**vc**), H/E, 110 x.

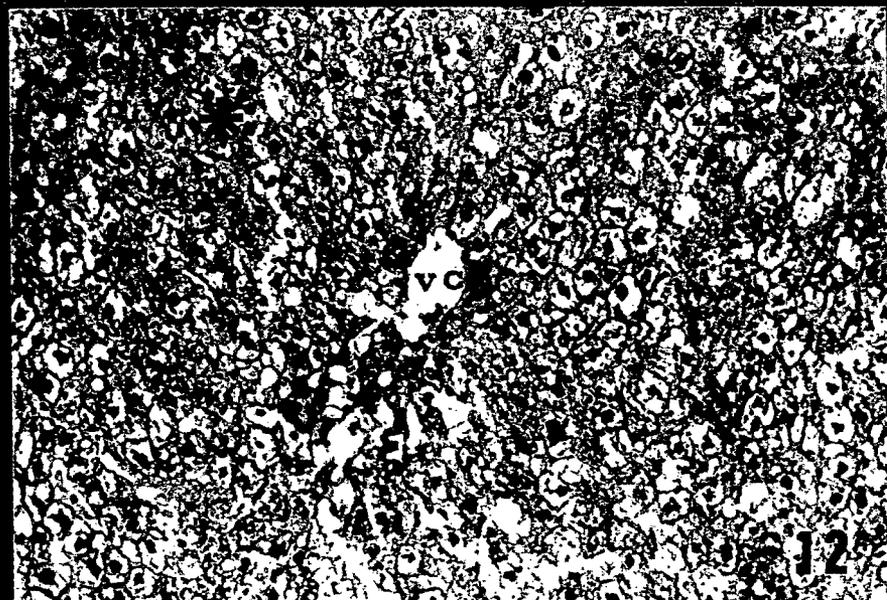
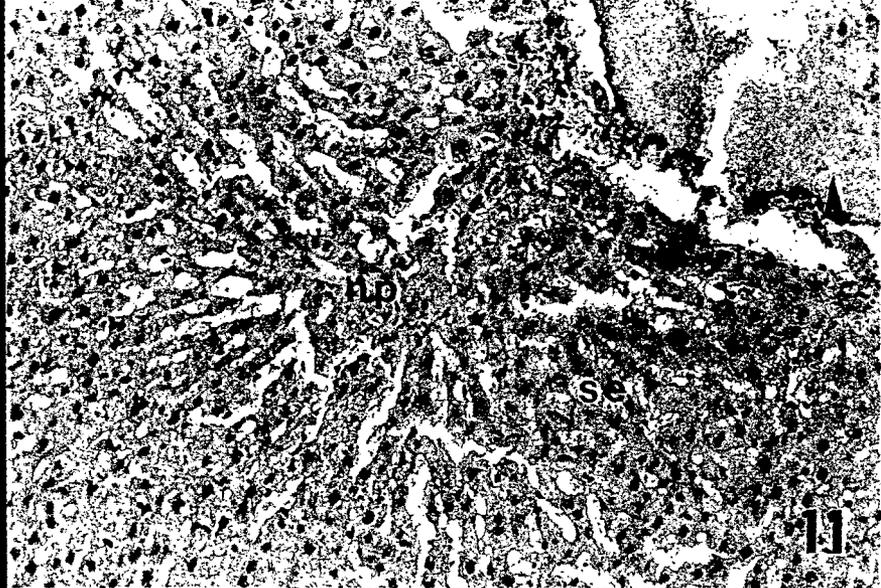


Figura 13

Fotomicrografía del riñón de una rata sacrificada del grupo control que recibió agua destilada. Se observa la distribución normal de glomérulos (**g**) en la corteza, así como cortes transversales de túbulos proximales (**tp**) y distales (**td**) de aspecto normal, H/E, 120 x.

Figura 14

Imágen análoga a la anterior de un tejido proveniente de una rata sacrificada del grupo control vehículo, donde se observa la presencia de material amorfo intratubular con pérdida de las células epiteliales absortivas (**et**), el glomérulo muestra aspecto normal (**g**), H/E, 180 x.

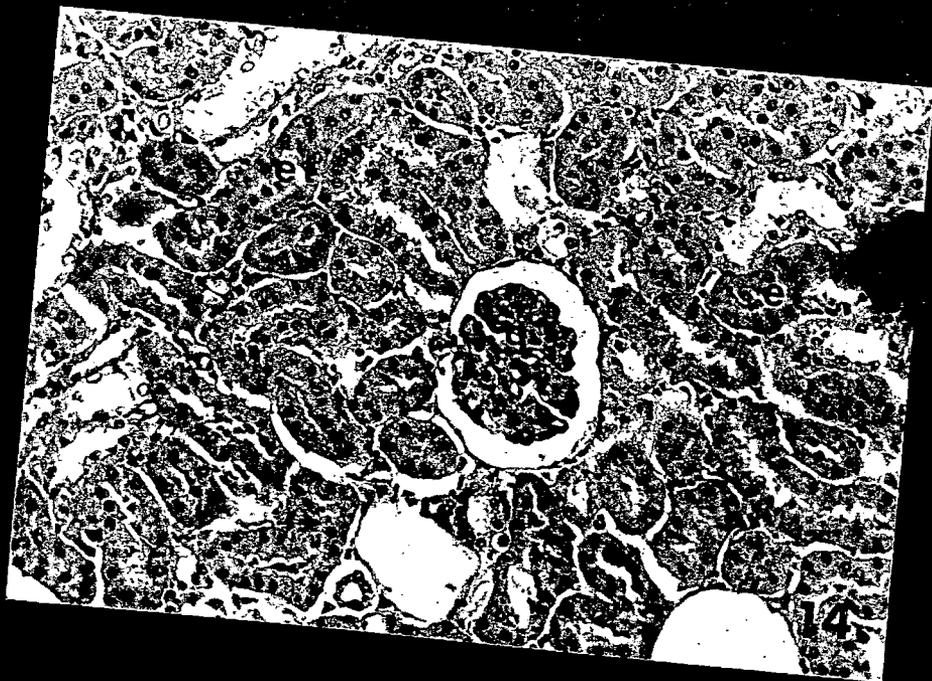
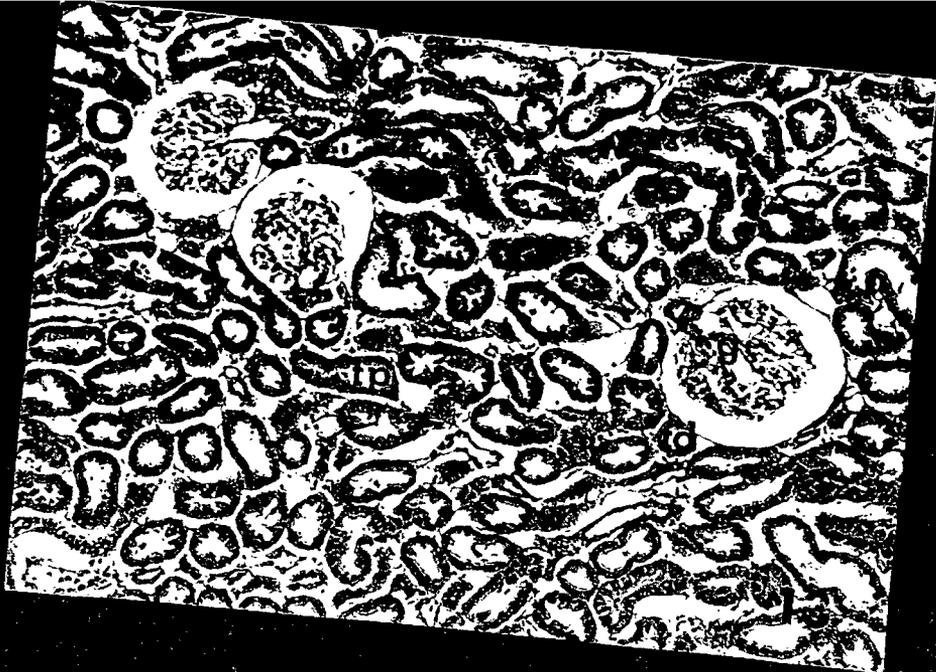
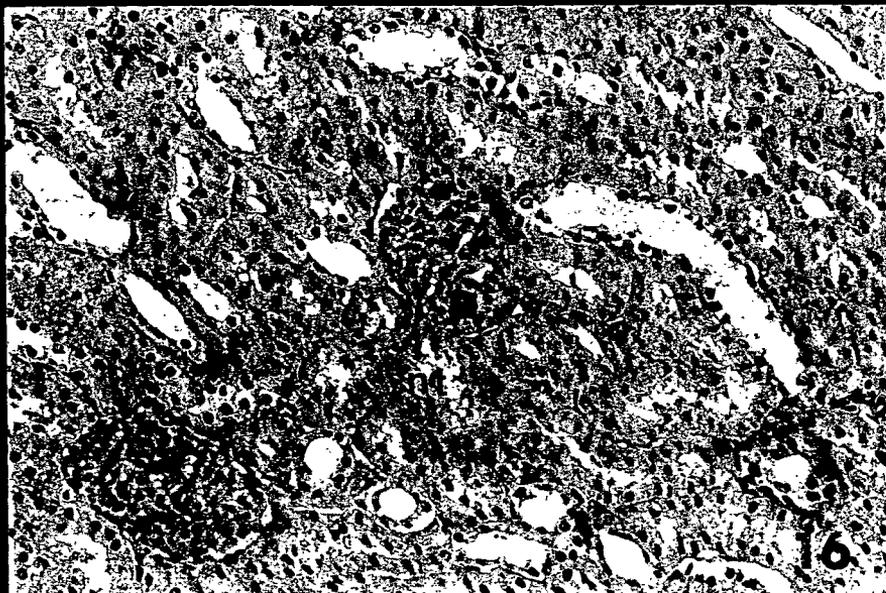
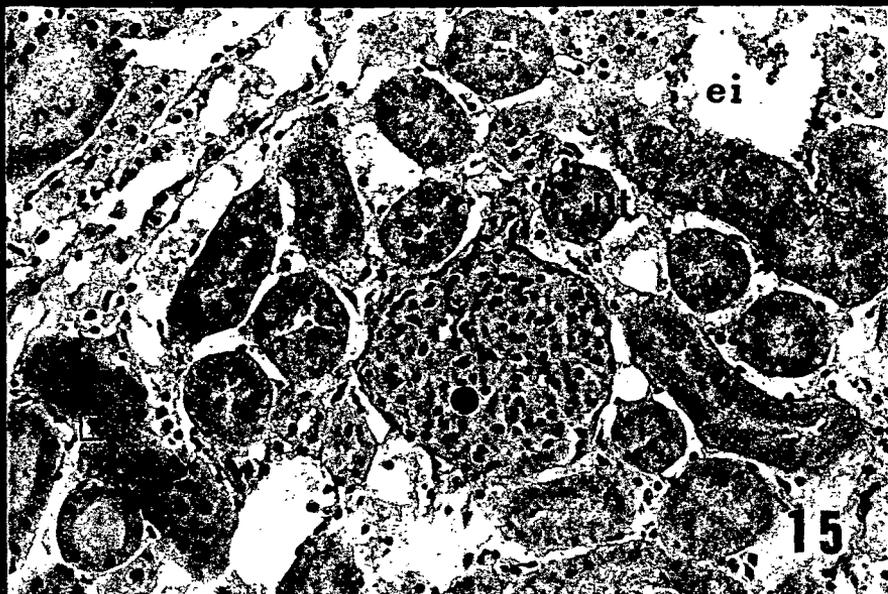


Figura 15. Grupo dosificado con la dosis media del extracto.

Fotomicrografía del riñón de una rata sacrificada en donde se observa necrosis tubular (**nt**), células picnóticas en algunos túbulos (□), y edema intertubular (**ei**). En el centro se aprecia un glomérulo con pérdida del espacio de Bowman y áreas de necrosis (●), H/E, 230 x.

Figura 16

Fotomicrografía del riñón de una rata que murió espontaneamente perteneciente al grupo que recibió la mayor cantidad del extracto. Se observa necrosis tubular parcial (**nt**) y glomerular con pérdida del espacio de Bowman (●), no se distinguen los límites entre las diferentes estructuras, H/E, 200 x.



DISCUSION

Solamente en la segunda etapa experimental, del día 16 al 19 se produjo disminución del peso corporal de los animales por el tratamiento con el extracto de Senecio guadalajarensis, ésta se debió principalmente a los efectos tóxicos provocados por el extracto, en otros estudios también se produjo disminución en el peso de ratas por efecto de la planta S. jacobaea ofrecida en forma de pellets a libre acceso. (16), lo mismo se ha observado con cabras en las que la misma especie fué ofrecida a libre acceso homogeneizada con otras plantas forrajeras (15).

A pesar de la reducción significativa del peso corporal en poco tiempo, no se produjo disminución del peso de los órganos por la intoxicación aguda que se provocó al duplicar la concentración. Se ha reportado disminución en el peso del hígado y riñones de ratas después de un período de administración de 6 semanas con S. jacobaea (16) y después de 4 a 5 meses del consumo de S. laetus por bovinos (7).

En el presente trabajo la pérdida rápida de peso fué solamente una manifestación del cuadro clínico antemortem que comprendió postración, distensión abdominal y anoréxia que sucedieron en el grupo de animales que recibió la máxima concentración oral del extracto, estos mismos síntomas se han reportado en ratas (16) y caballos (6) por el consumo de S. jacobaea.

Se produjeron alteraciones neurológicas caracterizadas por depresión en la respuesta a estímulos y movimientos, así como un im balance de electrolitos y parálisis del tubo gastrointestinal jun

to con la acumulación sistémica de toxinas al afectarse la capacidad de depuración hepática y renal.

Esta suposición fué confirmada al practicar la necropsia en los animales que murieron espontáneamente el día 19 después de haber _ iniciado el estudio, el hígado se observó de color rojo vinoso y _ con aspecto granular como se ha descrito en otros trabajos con ratas que consumieron Senecio jacobaea, por la acción de los alcaloides pirrolicidinas (AP) (16). Asimismo, en riñones se observaron _ lobulaciones y áreas focales de aspecto necrótico por su colora _ ción negruzca en la corteza y en menor proporción en la médula, _ sin otras alteraciones visibles, mientras que en el tubo digestivo se apreciaron lesiones caracterizadas por pérdida de tejido epite _ lial y áreas hemorrágicas que indican inhibición del transporte _ normal a través de la pared intestinal (25,29).

Las alteraciones del tubo digestivo posiblemente se iniciaron _ por la acción directa del extracto sobre la superficie luminal y _ posteriormente se potencializaron por la excreción de metabolitos _ secundarios tóxicos a través de las glándulas accesorias del tubo _ digestivo (4).

En general, las lesiones observadas en el presente estudio fue- ron más severas que las reportadas con el hidrolizado de S. quada lajarensis, esto se debió posiblemente a que en el liofilizado hi- drosoluble no estaban presentes la totalidad de alcaloides que so- lamente pueden extraerse por solventes orgánicos, sin embargo por _ acción del calor pudieron solubilizarse algunas fracciones de los _ compuestos tóxicos (25).

Al parecer el hígado fué el órgano principalmente lesionado por

la acción de Senecio como se ha demostrado en ratas (16,21) equinos (6) y bovinos (4,7). Las alteraciones han sido variables, desde necrosis focal hasta necrosis generalizada, esta última sucede después de altas dosis o períodos prolongados de administración. Por el contrario, la necrosis focal se resuelve favorablemente al suprimir el estímulo nocivo, por la gran capacidad regenerativa del hígado (1,16,20). Lo anterior también depende de la especie animal y su capacidad intrínseca hepática para metabolizar los AP a pirroles (1,16,20).

Al parecer las lesiones renales resultan de la incapacidad del animal para eliminar los compuestos tóxicos circulantes que provocan necrosis tubular proximal y distal en ratas (25), en bovinos intoxicados por Senecio laetus se observó edema glomerular y necrosis tubular zonal (7). Estas manifestaciones renales sugieren la posibilidad de que se afecten otros órganos de perfusión sanguínea (14)

En el presente estudio no se observaron signos clínicos de intoxicación letal durante los primeros 15 días de dosificación oral del extracto, sin embargo cuando se duplicó la dosis se produjo la muerte en los animales que alcanzaron una dosis total acumulada equivalente al consumo de 0.46 kg de la planta en base seca/kg de peso corporal al día 19. Esta cantidad es mayor que la reportada en otros estudios con ratas de 0.2 kg/kg de S. jacobaea que equivale a un 20 % del peso corporal, (Cuadro 3). Las diferencias probablemente se deban al esquema de dosificación establecido en los diferentes estudios o a la diferente toxicidad de la especie de Senecio.

De los resultados obtenidos con nuestra posología puede infe-

rirse que el extracto de S. guadalajarensis provocó un efecto tóxico progresivo por la acumulación de pirroles o productos intermediarios derivados de éstos que posiblemente se unieron a los tejidos por tiempo prolongado, sin embargo a pesar de que se suministró una dosis constante del día 1 al 15 experimental, los animales fueron incapaces de desarrollar tolerancia al aumentar la concentración de enzimas específicas para depurar los compuestos tóxicos, este mecanismo es útil para aumentar la capacidad de eliminación de metabolitos secundarios fácilmente excretables. La incapacidad se hizo evidente al duplicar la dosis en los últimos 4 días del experimento.

La tolerancia al consumo de Senecio ha quedado demostrada para algunos rumiantes pequeños como ovejas y cabras que son capaces de ingerir grandes cantidades de especies de Senecio sin efecto letal, esto no sucede con los bovinos, a pesar de que también son rumiantes, para estos basta con que consuman 0.14 kg/kg de peso corporal de S. jacobaea para que mueran, sin que necesariamente se alcance esta proporción en corto tiempo, lo que implica un efecto acumulativo que se manifiesta como letal cuando se rebasa el límite de tolerancia, de lo que resulta una impresión equivocada acerca de la muerte súbita que refieren los ganaderos inmediatamente después de la ingestión de la planta, por lo que atribuyen a ésta efectos semejantes a los que resultan después de la ingestión de compuestos vegetales cianogénicos.

Por todo lo anteriormente señalado, puede inferirse la posibilidad de identificar clínicamente los signos que indican una intoxicación moderada en bovinos y que preceden a una respuesta le -

tal, para separar a estos animales de sus sitios habituales de _
pastoreo e implementar un tratamiento encaminado a reducir la _
concentración del tóxico circulante y evitar que progresen las _
lesiones en órganos de depuración.

CONCLUSIONES

* Los alcaloides presentes en el extracto metanólico de la parte aérea de la planta completa Senecio guadalajarensis provocaron intoxicación letal en ratas a una dosis total acumulada de 55.568 g/kg de peso corporal después de un período de administración oral de 19 días.

* Se produjeron lesiones en hígado, riñones, estómago y yeyuno no solamente en los animales dosificados con el extracto y la severidad en las alteraciones estuvo directamente relacionada con la dosis suministrada.

* Los cambios anatomopatológicos e histopatológicos en hígado y riñones sugieren un fenómeno de inflamación seguido de trastornos permanentes vasculares, degeneración y necrosis de extensión variable por efecto del tóxico. El estómago y yeyuno sufrieron un daño directo por la presencia del extracto seguido de alteraciones secundarias por la eliminación sistémica del mismo.

* Las lesiones histopatológicas observadas indican un efecto tóxico sistémico progresivo sin que se produjera una respuesta resolutive, a pesar del estímulo linfocitario provocado por el extracto.

RECOMENDACIONES

Con los presentes resultados se demostró la toxicidad potencial de la planta inmadura de Senecio guadalajarensis. Para poder utilizar pastizales donde crece esta planta en forma autóctona con menor riesgo para el ganado bovino, una posibilidad sería la introducción de ovejas y/o cabras durante ciclos repetidos de pastoreo para disminuir la capacidad de reproducción de Senecio a través de sus semillas y afectar su ciclo foliar; de esta forma las especies señaladas actuarían como control biológico, o bien al permitir el pastoreo cuando los animales sean capaces de reconocer la planta madura, sin embargo se reduciría el potencial de agostadero.

BIBLIOGRAFIA

- 1.- Cheeke, P.R. 1988. Toxicity and metabolism of pyrrolizidine alkaloids. J. Anim. Sci. 66: 2343-2350.
- 2.- White, R.D., Swick, P.R., Cheeke, P.R. 1983. Effects of microsomal enzyme induction on the toxicity of pyrrolizidine (Senecio) alkaloids. J. Toxicol. Envir. Health. 12: 633-640.
- 3.- Shull, L.R., Buckmaster, G.W., Cheeke, P.R. 1976. Factors influencing pyrrolizidine (Senecio) alkaloid metabolism: species, liver sulfhydryls and rumen fermentation. J. Anim. Sci. 43: 1247-1253.
- 4.- Johnson, A.E., Ross, A., Smart, D.V.M. 1983. Effects on cattle and their calves of tansy ragwort (Senecio jacobaea) fed in early gestation. AM. J. Vet. Res. 44: 1215 - 1219.
- 5.- Cheeke, P.R., Schmitz, J.A., Lassen, E.D., Pearson, E.G. 1985. Effects of dietary supplementation with ethoxyquin, magnesium oxide, methionine hydroxy analog, and B vitamins on tansy ragwort (Senecio jacobaea) toxicosis in beef cattle. Am. J. Vet. Res. 46: 2179-2183.
- 6.- Garret, B.J., Holtan, D.W., Cheeke, P.R., Schmitz, J.A., Rogers, Q.R. 1984. Effects of dietary supplementation with butylated hydroxyanisole, cysteine, and B vitamins on tansy ragwort (Senecio jacobaea) toxicosis in ponies. Am. J. Vet. Res. 45: 459-464.
- 7.- Walker, K.H., Kirkland, P.D. 1981. Senecio laetus toxicity in

- cattle. J. Vet. Aus. 57: 1-7.
- 8.- Lüthy, J., Zweifel, U., Karlhuber, B., Schlatter, C. 1981. Pyrrolizidine alkaloids of Senecio alpinus L. and their detection in feedingstuffs. J. Agri. Food. Chem. 29: 302-305.
- 9.- Röder, E., Wiedenfeld, H., Pastewka, U. 1979. Pirrolizidinalkaloide aus Senecio vernalis. Am. J. Vet. Res. 37: 131-136.
- 10.- Asada, Y., Furuya, T. 1981. Neosenkirkine and senkirkine from Senecio pierotti. Am. J. Vet. Res. 42: 182.
- 11.- Röder, E., Wiedenfeld, H., Jost, E.J. 1981. Pirrolizidinalkaloide aus Senecio Congestus. Am. J. Vet. Res. 42: 182-183.
- 12.- Wiedenfeld, H., Pastewka, U., Stengl, P., Röder, E. 1981. Zur gaschromatographischen Bestimmung der pirrolizidinalkaloide aus einigen Senecioarten. Am. J. Vet. Res. 41: 124-128.
- 13.- Toppel, G., Witte, L., Riebesehl, K., Rorstel, K., Hartmann, T. 1987. Alkaloid patterns and biosynthetic capacity of root cultures from some pyrrolizidine alkaloid producing Senecio species. Plant. Cell. Rep. 6: 466-469.
- 14.- Goeger, D.E., Cheeke, P.R., Schmitz, J.A., Buhler, D.R. 1982. Toxicity of tansy ragwort (Senecio jacobaea) to goats. Am. J. Vet. Res. 43: 252-254.
- 15.- White, R.D., Swick, R.A., Cheeke, P.R. 1984. Effects of dietary copper and molybdenum on tansy ragwort (Senecio jacobaea) toxicity in sheep. Am. J. Vet. Res. 45: 159-

161.

- 16.- Miranda, C.L., Cheeke, P.R., Schmitz, J.A., Buhler, D.R. 1980. Toxicity of Senecio jacobaea (tansy ragwort) in rats. *Toxicol. App. Pharm.* 56: 432-442.
- 17.- Pierson, M.L., Cheeke, P.R., Dickinson, E.O. 1977. Resistance of the rabbit to dietary pyrrolizidine alkaloid (Senecio). *Res. Com. Chem. Path. Pharm.* 16: 561-564.
- 18.- Sharrow, S.H., Wayne, D.M. 1982. Sheep as a biological control agent for tansy ragwort. *J. Ran. Mana.* 35: 480-482.
- 19.- Swick, R.A., Cheeke, P.R., Miranda, C.L., Buhler, D.R. 1984. The effect of consumption of the pyrrolizidine alkaloid-containing plant Senecio jacobaea on iron and copper metabolism in the rat. *Chem. Orb.* 5: 59-69.
- 20.- Miranda, C.L., Cheeke, P.R., Goeger, D.E., Buhler, D.R. 1981. Effects of consumption of milk from goats fed Senecio jacobaea on hepatic drug metabolizing enzyme activities in rats. *Toxicol Lett.* 8: 343-347.
- 21.- Goeger, D.E., Cheeke, P.R., Schmitz, J.A., Buhler, D.R. 1982. Effects of feeding milk from goats fed tansy ragwort (Senecio jacobaea) to rats and calves. *Am. J. Vet. Res.* 43: 1631-1633.
- 22.- Aguilar, C., Zolla, C. 1982. Plantas tóxicas de México. División de Información Etnobotánica. Unidad de Investigación Biomédica en Medicina Tradicional y Herbaria. IMSS. p 216.
- 23.- Martinez, S.A.G., 1986. Demostración de la toxicidad de

- Senecio Salignus ("jaral"). Reunión de Investigación pecuaria en México. Memorias. p 24.
- 24.- McVaugh, R. 1985. Flora Novo-Galiciana (Compositae). Ann. Arbor. The University of Michigan Press. Tomo II. p 798.
- 25.- Romo, C.R.L. 1988. Autoecología y toxicología de la planta Senecio quadalajarensis B.L. Rob. Tesis de licenciatura. Facultad de Ciencias. U de G.
- 26.- Horwitz, W. 1970. Official Methods of Analysis of Association of Official Analytical Chemists. Eleventh Edition. Washington pp 56-57.
- 27.- Bruce, S. 1968. Manual of histologic staining methods of the armed forces Institute of pathology. McGraw Hill. Third edition. New York. p 5.
- 28.- Reyes, C.P. 1985. Diseño de experimentos aplicados. Editorial Trillas. 2a. Ed, México. pp 96-98, 286-296.
- 29.- Smith, J. 1972. Patología Veterinaria. Editorial UTHERA. p 1061.

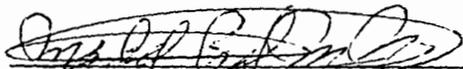
ING. ADOLFO ESPINOZA DE LOS MONTEROS
DIRECTOR DE LA FACULTAD DE CIENCIAS
UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA
P R E S E N T E

Por medio de este conducto me permito comunicar a Ud que la pasante de la Licenciatura en Biología Maricruz Rivera Fernández, ha concluido satisfactoriamente el trabajo de tesis que se titula: ALTERACIONES HISTOPATOLOGIICAS EN ESTOMAGO, YEYUNO, HIGADO Y RIÑONES DE RATAS POR LA ADMINISTRACIÓN ORAL DEL EXTRACTO METANOLICO DE Senecio guadalajarensis.

Asimismo le informo que después de revisar el manuscrito no tengo ningún inconveniente y doy mi aprobación para su su encuadernación..

Aprovecho la ocasión para enviarle un cordial saludo.

ATENTAMENTE



M.en C. Ma. del Refugio Mora Navarro.



UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA
FACULTAD DE CIENCIAS

Sección
Expediente
Número 0822/90

SRITA. MARICRUZ RIVERA FERNANDEZ
P R E S E N T E . -

Por este conducto nos permitimos informar a usted que se autoriza la modificación al tema de Tesis "ALTERACIONES HISTOPATOLOGICAS EN DIFERENTES ORGANOS DE RATAS POR LA ADMINISTRACION ORAL DEL EXTRACTO METANOLICO DE - Senecio guadalajarensis" por "ALTERACIONES HISTOPATOLOGICAS EN ESTOMAGO, - YEYUNO, HIGADO Y RIÑONES DE RATAS POR LA ADMINISTRACION ORAL DEL EXTRACTO - METANOLICO DE Senecio guadalajarensis".

Sin otro particular nos es grato reiterar a usted la expresión de nuestra consideración más distinguida.



FACULTAD DE CIENCIAS

ATENTAMENTE
"PIENSA Y TRABAJA"
Guadalajara Jal., 2 de Junio de 1990.

EL DIRECTOR

ING. ADOLFO ESPINOSA DE LOS MONTEROS CARDENAS

EL SECRETARIO

M.V.Z. MIGUEL CARBAJAL SORIA

c.c.p. M. en C. Refugio Mora Navarro
c.c.p. El expediente del alumno

cgir



UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA
FACULTAD DE CIENCIAS

Expediente
 Número 166/89

SRITA. MARICRUZ RIVERA FERNANDEZ
 P R E S E N T E . -

Manifiesto a usted que con esta fecha ha sido -
 aprobado el tema de Tesis "ALTERACIONES HISTOPATOLOGICAS EN
 DIFERNETES ORGANOS DE RATAS POR LA ADMINISTRACION ORAL DEL-
 EXTRACTO METANOLICO DE Senecio guadalajarensis" para obte--
 ner la Licenciatura en Biología.

Al mismo tiempo informo a usted que ha sido acep
 tada como Directora de dicha Tesis la M.en C. Ma. del Refu__
 gio Mora Navarro.

A T E N T A M E N T E
 "PIENSA Y TRABAJA"
 Guadalajara, Jal., Febrero 14 de 1989

EL DIRECTOR

DR. CARLOS ASTENGO OSUNA



FACULTAD DE CIENCIAS

EL SECRETARIO

ING. ADOLFO ESPINOZA DE LOS MONTEROS CARDENAS.

c.c.p. La M.en C. Ma. del Refugio Mora Navarro, Directora de -
 Tesis.-Pte.
 c.c.p. El expediente de la Alumna.