

Hayvanlarda enzootik haematüri'ye neden olan Eğreltiotu'nun insanlardaki toksikolojik etkileri

Türkan ÖZKARA^{a*} Erman OR^b Selmin TOPLAN^c

^aTürkiye Atom Enerjisi Kurumu, Çekmece Nükleer Araştırma Merkezi, Kimya Bölümü, İstanbul, TÜRKİYE

^bİstanbul Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, İstanbul, TÜRKİYE

^cİstanbul Üniversitesi, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Biyofizik Anabilim Dalı, İstanbul, TÜRKİYE

Özet: Eğreltiotu dünyanın her tarafına yayılmış çok yıllık otsu bir bitkidir. Türkiye’de yaygın olan Kartal eğreltisi (*Pteridium aquilinum*), üst yüzü çıplak, alt yüzü tüylü, spor keseleri yaprakların kenarında bir çizgi halinde toplanmış bir bitkidir. Eğreltiotu tannin, indanones ve pterolactama içeren çeşitli biokimyasal bileşikler ve siyanojenik glikozid veya prunasin, tiaminaz ve ptaquiloside denilen kanserojen maddeleri içerir. Eğreltiotunun kronik toksikolojisi idrar kesesi mukozasında ve kese duvarındaki tümörlerde kanamanın varlığı ile ortaya çıkar. Bu klinik sendrom enzootik hematüri olarak adlandırılır. Hayvanlarda hematüri, lökopeni, anemi ve hemoglobin seviyelerinde azalma görülür. Güney Amerika’da, bazı Asya ülkelerinde ve Japonya’da eğrelti otunun yenilmesiyle ya da bu otu yiyen hayvanların sütünün içilmesiyle ya da bitki sporlarının solunumuyla akciğerlere yerleşmesi ile insanlara bulaşma olmaktadır. Bugüne kadar yapılan çalışmalar eğrelti otunun insanlar üzerinde de kanserojenik etki yaptığını ortaya çıkartmıştır. Yurdumuzda daha çok Karadeniz sahilinde eğreltiotu bulunmaktadır. Bitkinin hayvanlar tarafından yenilmesi ile hayvan sağlığı ve verimi etkilenmektedir. Hayvanlardan insanlara bulaşma olması ile insanlarda risk altında olduğundan, bu bölgede yaşayan insanların diğer bölgelere göre kanser riskinin ve çeşidinin araştırılması eğer sindirim sistemi ve mide kanseri yönünden bu bölgelerde bir yoğunluk varsa, eğreltiotunun bu artışa etkisinin saptanmasına yönelik kapsamlı araştırmalar yapılmasının yararlı olacağı görüşündeyiz.

Anahtar sözcükler: Eğreltiotu, toksikoloji, kanser, insan, hayvan

Toxicological effects of bracken fern in human, which is the cause of enzootic haematüri in animal

Abstract: Bracken fern (genus *Pteridium*) has been described as one of the most common plants on the earth. Bracken fern is a perennial fern, which spread and persists by rhizome. The fronds vary from yellowish-green to dark green in colour and are divided into fine segments with a tough texture. The segments are narrow and the edges are inrolled with a line of brown spore bearing sporangia inside the rolled edges. The poisonous and carcinogenic substances found in Bracken are tannin, indanones, pterolactama, glycoside or prunasin, tiaminase, ptaquiloside. It has been recognized that the consumption of bracken fern by cattle induces bladder and intestinal carcinomas and also causes a number of diseases in other farm animal s. Bracken fern is grown commercially for human consumption in several regions, including Japan, northeastern US, Brazil and it also eaten by humans. Moreover, ingestion of bracken fern toxins can also occur indirectly through dairy products from contaminated cattle milk or by aspiration of bracken spores in the spring. Epidemiological studies have shown a suggestive association between human exposure to bracken and increased risk of tumors in upper gastrointestinal tract. *Pteridium aquilinum* is common plant in Blacksea region in Turkey. The aim of this study is to investigate whether consuming this plant is a risk factor increasing the cancer and to evaluate the common types of cancer in this region together with the effect of this plant in that tendency.

Key words: Bracken fern, toxicology, cancer, human, animal

GİRİŞ

Eğrelti otu'nun bulunduğu sınıfta 170 cins, 9000 tür bitki yaklaşık olarak dünyanın her tarafına yayılmıştır. Türlerinin çoğunluğu tropik bölgelerde yetişmektedir. Bugün yaşayanların çoğunluğu, çok yıllık otsu bitkilerdir. Memleketimizde bulunan eğreltiotu çeşitleri Venüs saçı, Geyik dili ve Kaya eğreltisi hakkında fazla bilgi bulunmamakta olup daha çok erkek eğreltiotu ve kartal eğreltisi ile ilgili çalışmalar yapılmaktadır (1).

Dryopteris filix-mas (L.), Schott (Aspidiaceae), (Erkek eğreltiotu): Ürünün taze veya kurutulmuş rizomudur. Bu tür 150 cm kadar yükselebilen, çiçeksiz, çok yıllık ve otsu bir bitkidir. Yapraklar parçalı, soruşlar yaprak loblarının altında iki sıra halinde ve böbrek biçimindedir. Bilhassa Kuzey Anadolu dağlarında yetişmektedir (1).

10-30 cm uzunluk ve beş-altı cm çapta, esmer kahve^renkli parçalar halindedir. Üzerinde yaprak sapı ve kök bakıyeleri bulunur. Kokusu özel, tadı ise buruktur. Şekerler, nişasta, organik asitler, uçucu yağ, tanen (%beş-on) ve etkili madde olarak filisin ismi verilen bir floroglusin türevleri karışımı taşımaktadır. Zigana dağlarında yetişen bitkilerin köklerinden elde edilen ekstrlerde %24-28 ham filisin bulunmaktadır (D-

İ.Ö. üçüncü yüzyıldan beri barsak parazitlerine karşı kullanılan bir drogdur. Omurgasız hayvanların kaslarını felç eden bir etkiye sahiptir. Bu nedenle bazı barsak parazitlerinin düşürülmesinde kullanılır. Bilhassa *Tenia* türleri üzerinde etkilidir. Barsak solucanları bu droga karşı bir dirence sahiptirler (1).

Pteridium aquilinum (L.), Kuhn(Hypolepidaceae), (Kartal Eğreltisi): 50-200 cm yükseklikte, çok yıllık ve otsu bitkidir. Yapraklar uzun saplı, lamina üç defa parçalıdır. Üst yüz çıplak, alt yüz tüylü, spor keseleri yaprakların kenarında bir çizgi halinde toplanmıştır. Çiçeksiz bir bitkidir. Anadolu sahillerinde ve bilhassa orman açıklıklarında bol olarak bulunur (1). Ülkemizde "Eğrelti" ismi genellikle bu tür için kullanılmaktadır. Tıbbi bir etki ve kullanılışı bulunmamaktadır. Taze yapraklar kavun ve karpuz sergilerinde yatak olarak kullanılır. Kuru yapraklar ise Karadeniz bölgesinde hayvanlara yem olarak verilmektedir (1).

Yurdumuzda özellikle Zonguldak'tan Hopa'ya kadar olan Karadeniz kıyı şeridi ile Bolu ve Kastamonu civarındaki hayvanlarda görülen eğreltiotu (*P. aquilinum*) zehirlenmesi önem taşımaktadır (2,3). Hayvanlar ve insanlarda toksik etki yapmaktadır (2,3,4,5,6,7).

Kuvvetli bir zehirliliğe sahip değildir. Taze bitkiyi yaşlı hayvanlar yemez. Genç hayvanlarda, bu bitkiyi yemesi sonucu ciddi zehirlenmeler görülür ve üç-dört gün içinde hayvan genellikle iç kanama ile ölür. Doğu Karadeniz bölgesinde kurutulmuş bitki hayvan yemi olarak kullanılmaktadır. Bu şekilde beslenen hayvanlarda tümörler (safra kesesi, barsak, mide) meydana gelmektedir (1,2,3,8).

Derlemede eğrelti otunun toksik ve kanserojenik etkilerinin yanı sıra hayvan ve insanlarda görülen semptomlar açısından bilgi verilmesi ayrıca ülkemiz için konunun öneminin vurgulanması amaçlanmıştır.

Eğreltiotunda bulunan zehirli maddeler

Eğreltiotundan tannin, indanones ve pterolactama içeren çeşitli biokimyasal bileşikler izole edilmiştir. Bununla birlikte sadece birkaç bileşik deneysel hayvanlarda kanserojenik etki göstermektedir.

a) *Tiaminaz*: Tiamin veya B1 vitaminini yok eder. Otçullar B1 vitaminini barsaklarında sentezlerler fakat atlar ve domuzlar eğreltiotu yediklerinde B1 vitamini eksikliği görülür (2,3,9). Eğreltiotu özellikle tiaminaz tipi antitiamin içerir. Tiamini iki halka yapıya ayırır. Bu durumda klinik olarak orta safhada ciddi sinir belirtilerine rastlanır.

b) *Ptaquiloside*: Kanserojen olan bu madde barsaktaki gibi alkali durumlarda bir ara bileşiğe çevrilir, ya inaktif pterosin B'den sulu reaksiyonlara ya da DNA kombinasyonu ile kromozomlarda değişikliklere neden olur (4,6,9,10,11,12,13,14). Kanser oluşumunda iki yol vardır. Birinci klasik yol tümör baskılatıcı ve onkogendeki mutasyonların birikmesi sonucu kanser oluşumudur. İkinci yol mutasyon yolunda ise kararsız mikrosatellitlerin uygun olmayan tamirle kritik hedef genlerde biriken mutasyona yol açmalarıdır. Bu yollardaki K-ras ve H-ras onkogenleri DNA hasarında önemlidir (6,15,16,17). Bu değişiklikler tümör oluşumuna yol açabilir.

Ptaquiloside, ineklerde hemorajik ateş ve enzootik hematüriden ve koyunlar da retinal dejenerasyondan sorumludur. Diğer kanserojen maddeler siyanojenik glikozid,prunasin, quercetin ve skikimate'dir (9,18,19). Eğreltiotu toksikasyonunda genel olarak sözü edilen madde *Ptaquiloside* (PT) dir.

PT renksiz, şekilsiz, nemli ve toz halindedir. Su, metanol ve etil asetatta çözünür. Sulu alkali solüsyonda (pH 8-11) bir şeker grubunun birleşmesiyle dienone (APT)'ye çevrilir. Bu aktif PT alkalide stabildir fakat asit sulu çözeltilerde stabil değildir ve derhal pterosin B'ye ve pterosin O'ya ayrılır. APT cyclopropil halkaya sahiptir ve kolayca su, protein ve DNA gibi nükleofillerle reaksiyon verebilir (9).

PT'nin kanserojenitesi başlangıçta DNA hasarı ile görülür. Kanserojenik etkide ilk aşama DNA'nın alkilasyonudur. Protoonkogenin spesifik kodlarındaki esas değişiklik nokta mutasyonuna yol açması ve bunun da yanlış protein ürününe yol açabilmesidir (9,15).

Eğrelti otunun kanserojenik etkisi hücresel ve moleküler olarak iki ayrı seviyede ortaya çıkar. Moleküler seviyede PT alkali durumda APT'ye (aktif PT) çevrilir, 24

saat içinde adeninin N3 de DNA aikilat oluşur. Hücresel etkisi kısa zamanda bu hasarı tamir kapasitesine sahiptir fakat bu hasar birkaçında hatalı tamire yol açabilir ve anahtar gende mutasyonların birikmesi sonucunda kanser oluşmasına neden olabilir. Diğer taraftan insan kanserlerinin çeşitli tiplerinde tümör baskılayıcı gen olarak p53 bilinmektedir. Bununla ilgili çalışmalar yapılmaktadır (9,15).

Akut toksik sendromlar

Hayvanların yaşı ve cinsine, yenilen eğreltiotu miktarına, nitelik ve tüketim süresine bağlı olarak hastalık meydana gelir. Eğreltiotunda bulunan kanserojenik maddenin konsantrasyonu da hastalığın meydana gelmesinde önemli bir etkidir (9).

1) Tiamin etkisinin azalması.

Özellikle atlarda B1 vitamin eksikliğine sebep olur. Hayvanda sendeleme, sarsılma, titreme, kalp atış sayısında azalma, göz bebeğinde genişleme, spazm ve koma hali görülür. En kötü lezyonlar beynin bilateral serebrokortikal nekrozlarıdır. Erken ve orta aşamada tiamin verilmesi ile tedavi yapılabilir. Ruminantlar bu sendroma dirençlidirler (2,3,9).

2) Akut kanama sendromları:

Ruminantlarda akut eğreltiotu zehirlenmesi hayvanların daha hızlı bölünen hücrelerinde dejeneratif değişikliğin ani klinik belirtileri olarak görülür. Özellikle genç hayvanlarda larinx, farinx ve barsak epitelinde nekrozla sonuçlanır. Kemik iliği aplazisi ciddi ve dramatik etki gösterir. Megakaryositler de trombosit üretimini durdururlar ve trombosit azlığı kanama ile sonuçlanır. Öncü hücrelerden diğerleri, granulositler ve lenfositler ciddi lökopeniye sebep olurlar. İneklerde daha ciddi etkiler granulositlerde görülür (2). Oysa koyunlarda esas lenfositopeni rapor edilmiştir. Eğreltiotu tüketiminden birkaç hafta sonra semptomlar ve ölümler görülebilir. Lökopeni, trombositopeni ve kemik iliği aplazisi inek, koyun ve kobay gibi hayvanların eğreltiotu ile beslenmesiyle artabilir. Akut kanama sendromu ineklerde koyunlardaki gibidir. Son çalışmalarda 6mg aktif ptaquiloside (APT) sindirim yoluyla verildiğinde böbrekte iskemik nekroz ve kemik iliği hipoplazisi görülmektedir (9).

Kronik toksik sendromlar

Koyunlarda kan damarlarındaki stenosis ve ilerleyen retinal kaybın oluşmasıyla körlük görülür. Bu durum kurutulmuş eğreltiotu içeren diyetle beslenen deney çalışmalarda da görülmüştür. Son zamanlarda koyunlarda görülen bu körlüğün kullanılan PT'den kaynaklandığı ispatlanmıştır (9). Koyunda eğreltiotu ile ilgili idrar kesesi kanseromu doğal olarak görülür ve deney şartlarında da görüldüğü rapor edilmiştir (9).

Eğrelti otunun kronik toksikolojisi idrar kesesi mukozasında ve kese duvarındaki tümörlerde kanamanın varlığı ile ortaya çıkar (4,9,11,20). Bu klinik sendrom

enzootik hematüri olarak adlandırılır (4,8,20,21,22). Bu hastalığı bulunan hayvanlarda hematüri, lökopeni, anemi ve hemogloblin seviyelerinde azalma görülür. Bu hastalık eğreltiotu ile beslenen ineklerde deneysel olarak da elde edilmiştir (9). İneklere ağız yoluyla PT verildiğinde trombosit azlığı, miyeloid aplazia ve neutropeni görülür. İlk çalışmalarda ineklerde beslenmeyle ilgili kanserlerden papilloma virüs tip 4 (BPV-4) sorumlu tutulmuştur. Diğer taraftan idrar kesesi kanseromu BPV-2 ile birlikte etki ettiği söylenmektedir (9,18). Connolly ve arkadaşları (18) son çalışmalarında quercetin ve transfectin ile BPV-4 primer inek hücrelerinin tümör değişimine yol açtığını rapor etmişlerdir. Yemek borusu, dil, ağız ve midenin ön kısmı gibi üst sindirim sistemi kanseromu belirlenmiştir. İnekte üst sindirim kanalının kanseromu papilloma virüsünde H-ras genin aktivasyonu gösterilmiştir. Son zamanlarda Prakash ve arkadaşları (16) P32 postlabelling ve cycle sequencing teknikleri kullanılarak eğreltiotu ile beslenen ineklerin incebarsağında DNA adduct ve H-ras'ın kolon 61 de mutasyon yaptığını saptamışlardır.

Atlarda bitki yenildikten birkaç ay sonra belirtiler ortaya çıkar. Hastalık mukozalarda kanamalarla başlar, sallantılı yürüyüş, sendeleme, sarsılma, yere yatma ve kalkamama, titreme, kalp atış sayısında azalma, göz bebeğinde genişleme, spazm, ishal ve koma hali görülür. Beden ısısı normal olan hayvanlarda genel bir anemi durumu vardır. Ayrıca domuzlarda iştah kaybı, kusma, ağır nefes alma ve ani ölüm şekillendiği bildirilmiştir (9).

Eğreltiotu tozu içeren besinlerle beslenen farelerde barsak adenokarsinomu ve idrar kesesi kanseromu gelişmiştir (5,9,19,22,23,24,25,26,27). Japonya'da kullanıldığı gibi eğreltiotu sodyum bikarbonat ile muamele edildikten sonra farelere verildiğinde tümör oluşum oranında azalma olduğu bildirilmiştir (24). Eğreltiotu kök ve yapraklarının kanserojenik karşılaştırılması ile ilgili çalışmalarda, eğreltiotu kökü ile beslenen hayvanlarda kanser riskinin daha fazla olduğu belirlenmiştir (9). Dişi farelerde adenokarsinomlar ve göğüs kanseri tespit edilmiş, ayrıca idrar kesesi ve barsak tümörleri de saptanmıştır (28). Kuru eğreltiotu diyeti ile beslenen farelerde dört ay sonra barsak tümörü oluşma oranının %33 olduğu bildirilmiştir. Bununla birlikte idrar kesesi oluşma riski düşüktür, sekiz ay bu diyetle beslenen hayvanlarda barsak tümörü ve idrar kesesi tümörünün ikisinin birden bulunma riski fazladır (9).

Bugüne kadar yapılan çalışmalarda eğreltiotunun hayvanlar üzerindeki toksikasyonu ve kanserojenik etkisi belirlenmiştir. Bu kanserojenik etkinin hayvanlardan insanlara özellikle sütle bulaşması veya Japonya'da olduğu gibi bazı ülkelerde otun yenilmesi ya da eğreltiotu sporlarının solunumu alınması ile insanlara bulaşma olmaktadır. Yine bu çalışmalar sindirim sistemi kanserinin eğreltiotu bulunan bölgelerde daha yaygın olduğunu ortaya çıkartmıştır.

Bazı Asya ülkelerinde, Güney Amerika'da ve Japonya'da eğrelti otunun yenilmesiyle (4,9,24) ya da bu otu yiyen hayvanların sütünün içilmesiyle insanlara bulaşma olmaktadır (9,17,21,29). Hayvan yetiştirme çiftliklerinde çalışanlarda ince barsak kanseri riski %20 ve idrar ke^cesi kanseri riski ise %27 fazladır (9). Japonya'da suda kaynatma ve soda külü ile yapılan geleneksel muamele eğreltiotunun kanserojenitesini azaltmasına rağmen, crosier tüketimiyle ilişkili olarak üst yemek borusu kanser sıklığı önemli derecede fazladır (24).

Galpin ve arkadaşlarının (30) yaptığı çalışmada eğreltiotunun çok bulunduğu Kuzey Galler'in Gwynedd bölgesinde yaşayan çiftlik çalışanlarında mide kanserinin görülme riski diğer bölgelere göre daha fazladır. İneklerde eğreltiotuna bağlı enzootik hematurinin fazla görüldüğü Kosta Rika'da insanlarda da mide kanseri saptanmıştır. Mide ve yemek borusu kanseri ile eğreltiotu tüketimi arasındaki ilişki Brezilya'da yapılan çalışmalarda da belirlenmiştir (9).

Alonso-Amelot ve arkadaşları (21), Venezüella'nın batısındaki dağlık bölgede mide kanseri ile özel çevre şartları arasındaki ilişkiyi araştırmışlardır. 1986-1996 yılları arasında buralarda yaşayan 5,5 milyon insanda yapılan çalışmada ölen 100.000 kişide yaş ve cinsiyete göre mide kanseri sıklığı ovada yaşayanlardan 3,64 kez daha fazla olduğunu ortaya çıkarmışlardır. Ağız ve boğaz kanseri (1,39 / 2,64) , üst solunum yolu kanseri (yemek borusu kanseri) (1,18 / 0,99) ve her iki bölgede akciğer, uterus ve serviks kanserlerine daha az rastlanmıştır. Dağlarda eğreltiotu fazla bulunmakta ve bunlarla beslenen ineklerin sütünde kanserojenik ptaquiloside rastlanmaktadır. Bu madde hayvanlarda enzootik hematüriye yol açmaktadır. Hayvanların sütü ile insanlara bulaşma olmakta ve midede *Helicobacter pylori* enfeksiyon sıklığı artmaktadır. Bütün bu veriler ışığında Venezüella'da mide kanserinin coğrafik bölge ile ilgisi tespit edilmiştir.

Eğreltiotunun kanserojen etkisinin insanlara bir diğer bulaşma yolu sporların solunumla akciğerlere yerleşmesi ve akciğer kanserine yol açmasıdır (9,31). Siman ve arkadaşları (31) eğreltiotu sporlarının insan hücreleri DNA'sına zarar verdiğini gösteren in vitro deneyler yapmışlardır. Bu deneylerde eğrelti otundan sporlar elde edilerek insan kan kültür hücrelerine verildiğinde DNA zincirinde kırılma olduğunu görmüşler ve bu hasarın kansere neden olduğunu göstermişlerdir.

Pamukçu ve arkadaşlara (32) çeşitli kimyasallar kullanarak eğreltiotunun kanserojenik etkisinin ortadan kaldırılması ile ilgili çalışmalar yapmışlardır. Albino farelerinde Butylated hydroxyanosole (BHA), disülfiram, kalsiyum klorid ve polivinilpirrolidon kullanarak barsak kanserinde azalma tespit etmişlerdir.

Yurdumuzda daha çok Karadeniz sahilinde eğreltiotunun bulunduğu ve hayvanlar tarafından yenilmesi ile hayvan sağlığı ve veriminin zarar gördüğü bilinmektedir. Sonuç olarak bu bölgede yaşayan insanların diğer bölgelere göre kanser riskinin ve çeşidinin

araştırılması eğer sindirim sistemi ve mide kanseri yönünden bu bölgelerde bir yoğunluk varsa, eğreltiotunun bu artışa etkisinin saptanmasına yönelik kapsamlı araştırmalar yapılmasının yararlı olacağı görülmektedir.

KAYNAKLAR

1. Baytop T: Türkiye'de Bitkiler ile Tedavi . Nobel tıp kitabevi 205 (1999).
2. Batmaz H: Sığır iç Hastalıkları. Danışman ofset. Bursa 35 (1997).
3. İmren HY, Şahal M: Veteriner İç Hastalıkları. Aydoğdu Matbaacılık. Ankara 169 (1990).
4. Alonso-Amelot ME, Avendano M: Human carcinogenesis and bracken fern: a review of the evidence. *Curr Med Chem.*, **9**: 675 (2002).
5. Garrett BJ, Cheeke PR, Miranda CL, Goeger DE, Buhler DR: Consumption of poisonous plants (*Senecio jacobaea*, *Symphytum officinale*, *Pteridium aquilinum*, *Hypericum perforatum*) by rats: chronic toxicity, mineral metabolism and hepatic drug-metabolizing enzymes. *Toxicol Lett.*, **10**: 183 (1982).
6. Shahin M, Moore MR, Worrall S, Smith BL, Seawright AA, Prakash AS: H-ras activation is an early event in the ptaquiloside-induced carcinogenesis. *Biochem Biophys Res Commun.*, **250**: 491 (1998).
7. Taylor JA, Smith RT: Bracken fern: Toxicity, Biology and Control, The international bracken group. **218**: 106 (2000).
8. Evans IA: Bracken carcinogenicity. *Res Vet Sci.*, **26**: 339 (1979).
9. Shahin M, Smith BL, Prakash AS: Bracken carcinogens in the human diet. *Mutat Res.*, **443**: 69 (1999).
10. Hirono I, Kono Y, Takahashi K, Yamada K, Niwa H, Ojika M, Kigoshi H, Niiyama K, Uosaki Y: Reproduction of acute bracken poisoning in a calf with ptaquiloside, a bracken constituent. *Vet Rec.*, **115**: 375 (1984).
11. Castillo UF, Ojika M, Alonso-Amelot ME, Sakagami Y: Ptaquiloside Z_a, a new toxic unstable sesquiterpene glucoside from the neotropical bracken fern *pteridium aquilinum* var. *caudatum*. *Bioorgan Med Chem.*, **6**: 2229 (1998).
12. Castillo UF, Sakagami Y, Alonso-Amelot ME, Ojika M: Pteridaboside, the first protoilludane sesquiterpene glucoside as a toxic component of the neotropical bracken fern *pteridium aquilinum* var. *caudatum*. *Tetrahedron*, **55**: 12295 (1999).
13. Freitas RN, O'Connor PJ, Prakash AS, Shahin M, Povey AC: Bracken (*Pteridium aquilinum*)-induced DNA adducts in mouse tissues are different from the adduct induced by the activated form of the bracken carcinogen ptaquiloside. *Biochem Biophys Res Commun.*, **281**: 589 (2001).
14. Kigoshi H, Kitamura Y, Fujita T, Ohashi H, Atsumi T, Takagi J, Mutou T, Yamada K: A new synthetic analogue of the bracken ultimate carcinogen: elevation of , stability and alteration of DNA alkylation site selectivity. *Tetrahedron Lett.*, **38**: 3235 (1997).
15. Freitas RN, Brasileiro-Filho G, Silva ME: Bracken fern- induced malignant tumors in rats: absence of mutations in p53, H-ras and K-ras and no microsatellite instability. *Mutat Res.*, **499**: 189 (2002).
16. Prakash AS, Pereira TN, Smith BL, Shaw G, Seawright AA: Mechanism of bracken fern carcinogenesis: evidence for H-ras activation via initial adenine alkylation by ptaquiloside. *Nat Toxins*, **4**: 221 (1996).

17. Smith BL, Seawright AA: Bracken fem (Pteridium spp.) carcinogenicity and human health-a brief review. *Nat Toxins*, **3**: 1 (1995).
18. Connolly JA, Morgan IM, Jackson ME, Campo UK: The BPV- 4 co-carcinogen quercetin induces cycle arrest and up-regulates transcription from the LCR of BPV-4, *Oncogene* **16**: 2739 (1998).
19. Pamukçu AM, Yalçiner S, Hatcher JF, Bryan GT: Quercetin, a rat intestinal and bladder carcinogen present in bracken fem (Pteridium aquilinum). *Cancer Res.*, **40**: 3468 (1980).
20. Wang CY, Chiu CW, Pamukçu AM, Bryan GT: Identification of carcinogenic tannin isolated from bracken fem (Pteridium aquilinum). *JNati Cancer I*, **56**: 33 (1976).
21. Alonso-Amelot ME, Avendano M: Possible association between gastric cancer and bracken fem in Venezuela: an epidemiologic study. *IntJ Cancer*, **91**: 252 (2001)
22. Gerenutti M, Spinosa HS, Bemardi MM: Effect of bracken fem (Pteridium aquilinum L Kuhn) feeding during the development of female rats and their offspring. *Vet Hum Toxicol.*, **34**: 307 (1992).
23. Hirono I, Hosaka S, Kuhara K: Enhancement bracken of induction of tumors of the upper alimentary tract by N-propyl-N-nitrosourethan. *Brit J Cancer*, **46**: 423 (1982).
24. Hirono I: Human carcinogenic risk in the use of bracken fem. *Princess takamatsu symposia*, **16**: 139 (1985).
25. Pamukçu AM, Ertürk E, Yalçiner S, Bryan GT: Histogenesis of urinary bladder cancer induced in rats by bracken fem. *Invest Urol.*, **14**: 213 (1976).
26. Pamukçu AM, Wang CY, Hatcher J, Bryan GT: Carcinogenicity of tannin and tannin-free extracts of bracken fem (Pteridium aquilinum) in rats. *J Nati Cancer I*, **65**: 131 (1980).
27. Pamukçu AM, Milli U, Bryan GT: Protective effect of nicotinamide on bracken fem induced carcinogenicity in rats. *Nutr Cancer*, **3**: 86 (1981).
28. Hirono I, Aiso S, Hosaka S, Yamaji T, Haga M: induction of mammary cancer in CD rats fed bracken diet. *Res Vet Sci.*, **26**: 339 (1979).
29. Pamukçu AM, Ertürk E, Yalçiner S, Milli U, Bryan GT: Carcinogenic and mutagenic activities of milk from cows fed bracken fem (Pteridium aquilinum). *Cancer Res.*, **38**: 1556 (1978).
30. Galpin OP, Whitaker CJ, Whitaker R, Kassab JY: Gastric cancer in Gvynedd. Possible links with bracken. *Brit J Cancer*, **61**:737(1990).
31. Siman SE, Povey AC, Ward TH, Margison GP, Sheffield E: Fem spore extracts can damage DNA. *Brit J Cancer*, **83**: 69 (2000).
32. Pamukçu AM, Yalçiner S, Bryan GT: Inhibition of carcinogenic effect of bracken fem (Pteridium aquilinum) by various Chemicals. *Cancer*, **40**: 2450 (1977).

^Yazışma Adresi:

Türkan ÖZKARA
Türkiye Atom Enerjisi Kurumu
Çekmece Nükleer Araştırma Merkezi, Kimya Bölümü,
İSTANBUL

e-mail: