

## Eğreltiotu'nun İnsan ve Hayvanlardaki Kanserojenik Etkileri

Türkan ÖZKARA<sup>1</sup> Erman OR<sup>2</sup> Selmin TOPLAN<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Türkiye Atom Enerjisi Kurumu, Çekmece Nükleer Araştırma Merkezi, Kimya Bölümü, İstanbul / Türkiye

<sup>2</sup>İstanbul Üniv. Veteriner Fak. İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Avcılar- İstanbul / Türkiye

<sup>3</sup>İstanbul Üniv. Cerrahpaşa Tıp Fak. Biyofizik Anabilim Dalı, İstanbul / Türkiye

### ÖZET

*Eğreltiotu (Pteridium aquilinum), dünyanın her tarafına yayılmış çok yıllık otsu bir bitkidir. Sarımsı-yeşilden koyu yeşile değişen renklerde yaprakları vardır. Yapraklar sağlam bir yapıda 5 parçaya ayrılmıştır ve spor keseleri yaprakların kenarında bir çizgi halinde toplanmıştır. Eğreltiotu tannin, indanones ve pterolactama içeren çeşitli biokimyasal bileşikler ve siyanojenik glikozid veya prunasin, tiaminaz ve ptaquiloside denilen kanserojen maddeleri içerir. Eğreltiotunun çiftlik hayvanları tarafından yenilmesi sonucunda hayvanlarda, idrar kesesi, barsak ve mide kanseri görülmektedir. Amerika, Brezilya bazı Asya ülkeleri ve Japonya'da eğreltiotunun yenilmesiyle ya da bu otu yiyen hayvanların sütünü içilmesiyle ya da bitki sporlarının solunumu akciğerlere yerleşmesi ile insanlara bulaşma olmaktadır. Epidemiyolojik çalışmalar, insanlarda üst sindirim sisteminde tümör oluşma riski ile eğreltiotu tüketilmesi arasında ilişki olduğunu göstermiştir. Yurdumuzda daha çok Karadeniz sahilinde eğreltiotu bulunmaktadır. Derlemede, eğrelti otunun toksik ve kanserojenik etkilerinin yanı sıra, hayvan ve insanlarda görülen semptomlar açısından bilgi verilmesi, ayrıca ülkemiz için konunun önemini vurgulanması amaçlanmıştır.*

**Anahtar kelimeler:** Eğreltiotu, toksikoloji, kanser, insan, hayvan

### Toxicological Effects of Bracken Fern in Human and Animal

### SUMMARY

*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, thiaminase, ptaquiloside. It has been recognized that the consumption of bracken fern by cattle induces bladder, stomach and intestinal carcinomas and also causes a number of diseases in other farm animals. Bracken fern is grown commercially for human consumption in several regions, including Japan, USA, Brazil, Asia 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. In this review, besides the toxic and cancerogenic effects of Bracken fern, it is aimed to give information about symptoms appeared in animals and human and also emphasize the importance of that subject.*

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

### GİRİŞ

Eğreltiotu'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.

Pteridium aquilinum (Kartal Eğreltisi) çiçeksiz bir bitki olup, Anadolu sahillerinde ve bilhassa orman açıklıklarında bol olarak bulunur. 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 (4).

Yurdumuzda özellikle Zonguldak'tan Hopa'ya kadar olan Karadeniz kıyı şeridi ile Bolu ve Kastamonu civarındaki hayvanlarda görülen eğreltiotu (*P. aquilinum*) zehirlenmesi önem taşımaktadır (3,20). Bitkinin

hayvanlar ve insanlarda toksik etki yaptığı bildirilmiştir (2,3,12,20,30,34).

Kuvvetli bir zehirliliğe sahip değildir. Taze bitkiyi yaşlı hayvanlar yemez. Genç hayvanlarda ise ciddi zehirlenmelergörülür ve üç-dört gün içinde hayvan genellikle iç kanama ile ölür. Doğu Karadeniz Bölgesinde kurutulmuş bitki hayvan yemi olarak kullanılmaktadır. Bu şekilde beslenen hayvanlarda safra kesesi, barsak, mide tümörleri meydana gelmektedir (3,4,8,20).

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

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

Bunlardan biri olan Ptaquiloside barsakta bir ara bileşiğe çevrilir, ya inaktif pterosin B'den sulu reaksiyonlara ya da DNA kombinasyonu ile kromozomlarda değişikliklere neden olur (2,5,6,9,18,21,30,31). Kanser oluşumunda iki yol vardır:

a)Tümör baskılatıcı ve onkogendeki mutasyonların birikmesi sonucu kanser oluşumu.

b)Kararsız mikrosatellitlerin uygun olmayan tamirle kritik hedef genlerde biriken mutasyona yol açmaları. Bu yollardaki K-ras ve H-ras onkogenleri DNA hasarında önemlidir. Bu değişiklikler tümör oluşumuna yol açabilir (10,29,30,33).

Ptaquiloside, ineklerde hemorajik ateş ve enzootik hematüriden ve koyunlarda retinal dejenerasyondan sorumludur. Diğer kanserojen maddeler siyanojenik glikozid, prunasin ve quercetindir. Eğreltiotu toksikasyonunda genel olarak sözü edilen madde Ptaquiloside (PT) dir (7,27,31).

PT renksiz, şekilsiz, nemli ve toz halindedir. Su, metanol ve etil asetatla 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 nukleofillerle reaksiyon verebilir (31).

Eğreltiotunun kanserojenik etkisi hücresele ve moleküler olarak iki ayrı seviyede ortaya çıkar. Moleküler seviyede PT alkali durumda APT'ye (aktif PT) çevrilir, 24 saat içinde adeninin N<sub>3</sub> de DNA alkilat oluşur. Hücresele 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 (10,31).

#### *Akut toksik sendromlar:*

Hayvanların yaşı ve cinsine, yenilen eğreltiotu miktarına, nitelik ve tüketim süresine bağlı olarak hastalık meydana gelir. Eğreltiotunda bulunan zehirli bileşiklerin konsantrasyonu da hastalığın meydana gelmesinde önemli bir etkidir (31).

#### 1) Tiamin etkisinin azalması.

Özellikle atlarda B<sub>1</sub> 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 dirençlidir (3,20,31).

#### 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. İneklere daha ciddi etkiler granülositlerde görülür (3). 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 (31).

#### *Kronik toksik sendromlar:*

Koyunlarda kan damarlarındaki stenosis ve ilerleyen retinal kaybın oluşmasıyla körlük görülür. Bu durum deneysel olarak, kurutulmuş eğreltiotu içeren diyetle beslenen hayvanlar da görülmüştür. Son zamanlarda koyunlarda görülen bu körlüğün kullanılan PT'den kaynaklandığı ispatlanmıştır. Koyunda eğreltiotu ile ilgili idrar kesesi karsinomunun doğal olarak görüldüğü ve deney şartlarında da oluştuğu bildirilmiştir (36).

Eğreltiotunun kronik toksisitesi idrar kesesi mukozasında ve kese duvarındaki tümörlerde kanamanın varlığı ile ortaya çıkar (2,5,31,35). Bu klinik sendrom enzootik hematüri olarak adlandırılır (1,2,8,13,35). Bu hastalığı bulunan hayvanlarda hematüri, lökopeni, anemi ve hemoglobin seviyelerinde azalma görülür. Bu hastalık eğreltiotu ile beslenen ineklerde deneysel olarak da elde edilmiştir (22). 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 karsinomunda BPV-2 ile birlikte etki ettiği söylenmektedir (7,31). Connolly ve arkadaşları (7) son çalışmalarında quercetin ve transfectin ile BPV-4'in primer inek hücrelerinin tümör değişimine yol açtığını rapor etmişlerdir. Yemek borusu, dil, ağız ve midenin ön kısmı gibi üst sindirim sistemi karsinomu belirlenmiştir. İnekte üst sindirim kanalının karsinomunda papilloma virüsünde H-ras genin aktivasyonu gösterilmiştir. Son zamanlarda Prakash ve arkadaşları (29) 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 klinik 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 ısı normal olan hayvanlarda genel bir anemi durumu vardır. Ayrıca domuzlarda iştah kaybı, kusma, ağır nefes alma ve ani ölüm şekillendiği bildirilmiştir (31).

Eğreltiotu tozu içeren besinlerle beslenen farelerde barsak adenokarsinomu ve idrar kesesi karsinomu gelişmiştir (12,13,17,19,23,26-28,31). Japonya'da kullanıldığı gibi eğreltiotu sodyum bikarbonat ile muamele edildikten sonra farelere verildiğinde tümör oluşum oranında azalma olduğu bildirilmiştir (19). Eğreltiotu kök ve yapraklarının karşılaştırmalı kanserojenik etkileri ile ilgili çalışmalarda, eğreltiotu kökü ile beslenen hayvanlarda kanser riskinin daha fazla olduğu belirlenmiştir (15,17). Dişi farelerde adenokarsinomlar ve göğüs kanseri tespit edilmiş, ayrıca

idrar kesesi ve barsak tümörleri de saptanmıştır (16). 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 (14,17).

Bugüne kadar yapılan çalışmalarda (2,10,13,16,17,23,24,26-30,35) 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 solunumuyla alınması ile insanlara bulaşma olmaktadır. Yine bu çalışmalar (1,11,19) sindirim sistemi kanserinin eğreltiotu bulunan bölgelerde daha yaygın olduğunu ortaya çıkartmıştır.

Bazı Asya ülkelerinde, Güney Amerika'da ve Japonya'da eğrelti otunun yenilmesiyle (2,19,31) ya da bu otu yiyen hayvanların sütünün içilmesiyle insanlara bulaşma olmaktadır (1,25,31,33). Hayvan yetiştirme çiftliklerinde çalışanlarda ince barsak kanseri riski % 20 ve idrar kesesi kanseri riski ise % 27 fazladır (31). 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 (19).

Galpin ve arkadaşlarının (11) 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 (31).

Alonso-Amelot ve arkadaşları (1), 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 solunumuyla akciğerlere yerleşmesi ve akciğer kanserine yol açmasıdır (31,32). Siman ve arkadaşları (32) eğreltiotu sporlarının insan hücreleri DNA'sına zarar verdiğini gösteren in vitro

deneysel yapmışlardır. Bu deneylerde eğreltiotundan sporlar elde edilerek insan kan kültür hücrelerine verildiğinde DNA zincirinde kırılma olduğunu görmüşler ve bu hasarın kansere neden olduğunu göstermişlerdir.

Pamukçu ve arkadaşları (24) çeşitli kimyasallar kullanarak eğreltiotunun kanserojenik etkisinin ortadan kaldırılması ile ilgili yaptıkları çalışmada albino farelerde Butylated hydroxyanisole (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-Alonso-Amelot ME, Avendaño M, (2001): Possible association between gastric cancer and bracken fern in Venezuela: an epidemiologic study. *Int. J. Cancer.*, 91, 2: 252-259.
- 2.-Alonso-Amelot ME, Avendaño M, (2002): Human carcinogenesis and bracken fern: a review of the evidence. *Curr. Med. Chem.*, 9, 6: 675-686.
- 3.-Batmaz H (1997): Sığır İç Hastalıkları 35 Danışman ofset Bursa.
- 4.-Baytop T (1999): Türkiye'de Bitkiler ile Tedavi 205 Nobel tıp kitabevi.
- 5.-Castillo UF, Ojika M, Alonso-Amelot ME, Sakagami Y, (1998): Ptaquiloside Z,a new toxic unstable sesquiterpene glucoside from the neotropical bracken fern *pteridium aquilinum var.caudatum*. *Bioorgan Med. Chem.*, 6: 22292233.
- 6.Castillo UF, Sakagami Y, Alonso-Amelot ME, Ojika M, (1999): Pteridaboside, the first protoilludane sesquiterpene glucoside as a toxic component of the neotropical bracken fern *pteridium aquilinum var.*
- 7.Caudatum. *Tetrahedron*, 55: 12295-12300
- Evans IA, (1979): Bracken carcinogenicity. *Res. Vet. Sci.*, 26, 3: 339-348.
- 8.Connolly JA, Morgan IM, Jackson ME, Campo UK, (1998): The BPV-4 co-carcinogen quercetin induces cycle arrest and up-regulates transcription from the LCR of BPV-4. *Oncogene.*, 16: 2739.
- 9.Evans IA, (1979): Bracken carcinogenicity. *Res. Vet. Sci.*, 26:339-348.
- 10.Freitas RN, O'Connor PJ, Prakash AS, Shahin M, Povey AC, (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. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 281, 2: 589-594.

- 11.Freitas RN, Brasileiro-Filho G, Silva ME, (2002):** Bracken fern-induced malignant tumors in rats: absence of mutations in p53, H-ras and K-ras and no microsatellite instability. *Mutat. Res.*, 499: 189-196.
- 12.Galpin OP, Whitaker CJ, Whitaker R, Kassab JY, (1990):** Gastric cancer in Gwynedd. Possible links with bracken. *Brit. J. Cancer.*, 61, 5: 737-740.
- 13.Garrett BJ, Cheeke PR, Miranda CL, Goeger DE, Buhler DR, (1982):** 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: 183-188.
- 14.Gerenutti M, Spinosa HS, Bernardi MM, (1992):** Effect of bracken fern (*Pteridium aquilinum* L Kuhn) feeding during the development of female rats and their offspring. *Vet. Hum. Toxicol.*, 34, 4: 307-310.
- 15.Hirono I, Shibuya C, Fushimi K, Haga M, (1970):** Studies on carcinogenic properties of bracken, *Pteridium aquilinum*. *J.Natl.Cancer Inst.*, 45:182-188.
- 16.Hirono I, Fushimi K, Mori H, Miva T, HagaM, (1973):** Comparative study of carcinogenic activity of each part of bracken fern. *J.Natl.Cancer.Inst.*,50: 1367-1371.
- 17.Hirono I, Aiso S, Hosaka S, Yamaji T, Haga M, (1979):** Induction of mammary cancer in CD rats fed bracken diet. *Res.Vet. Sci.*, 26, 3: 339-348.
- 18.Hirono I, Hosaka S, Kuhara K, (1982):** Enhancement bracken of induction of tumors of the upper alimentary tract by N-propyl-N-nitrosourethan. *Brit. J. Cancer.*, 46, 3: 423-427.
- 19.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. *Vet. Rec.*, 115, 15: 375-378.
- 20.Hirono I, (1985):** Human carcinogenic risk in the use of bracken fern. *Princess takamatsu symposia*, 16: 139-145.
- 21.İmren HY, Şahal M (1990):** Veteriner İç Hastalıkları 169 Aydoğdu Matbaacılık Ankara.
- 22.Kigoshi H, Kitamura Y, Fujita T, Ohashi H, Atsumi T, Takagi J, Mutou T, Yamada K, (1997):** A new synthetic analogue of the bracken ultimate carcinogen: elevation of , stability and alternation of DNA alkylation site selectivity. *Tetrahedron Lett.*, 38, 18: 3235-3238.
- 23.Pamukcu AM, Goksoy SK, PriceJM, (1967):** Urinary bladder neoplasms induced by feeding bracken fern (*Pteris aquilina*) to cows. *Cancer Res.*,27: 917-921. (\*36)
- 24.Pamukçu AM, Ertürk E, Yalçiner S, Bryan GT, (1976):** Histogenesis of urinary bladder cancer induced in rats by bracken fern. *Invest.Urol.*, 14, 3: 213-218.
- 25.Pamukçu AM, Yalçiner S, Bryan GT, (1977):** Inhibition of carcinogenic effect of bracken fern (*Pteridium aquilinum*) by various chemicals. *Cancer.*, 40, 5: 2450-2454.
- 26.Pamukçu AM, Ertürk E, Yalçiner S, Milli U, Bryan GT, (1978):** Carcinogenic and mutagenic activities of milk from cows fed bracken fern (*Pteridium aquilinum*). *Cancer Res.*, 38, 6: 1556-1560.
- 27.Pamukçu AM, Wang CY, Hatcher J, Bryan GT, (1980):** Carcinogenicity of tannin and tannin-free extracts of bracken fern (*Pteridium aquilinum*) in rats. *J. Natl. Cancer I.*, 65, 1: 131-136.
- 28.Pamukçu AM, Yalçiner S, Hatcher JF, Bryan GT, (1980):** Quercetin, a rat intestinal and bladder carcinogen present in bracken fern (*Pteridium aquilinum*). *Cancer Res.*, 40, 10: 3468-3472.
- 29.Pamukçu AM, Milli U, Bryan GT, (1981):** Protective effect of nicotinamide on bracken fern induced carcinogenicity in rats. *Nutr. Cancer.*, 3, 2: 86-93.
- 30.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. *Nat. Toxins.*, 4, 5: 221-227.
- 31.Shahin M, Moore MR, Worrall S, Smith BL, Seawright AA, Prakash AS, (1998):** H-ras activation is an early event in the ptaquiloside-induced carcinogenesis. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 250, 2: 491-497.
- 32.Shahin M, Smith BL, Prakash AS, (1999):** Bracken carcinogens in the human diet. *Mutat. Res.*, 443: 69-79.
- 33.Siman SE, Povey AC, Ward TH, Margison GP, Sheffield E, (2000):** Fern spore extracts can damage DNA. *Brit. J. Cancer.*, 83, 1: 69-73.
- 34.Smith BL, Seawright AA, (1995):** Bracken fern (*Pteridium* spp.) carcinogenicity and human health—a brief review. *Nat. Toxins.*, 3, 1: 1-5.
- 35.Taylor JA, Smith RT, (2000):** Bracken fern: Toxicity, Biology and Control. *The international bracken group*, 218: 106-107.
- 36.Wang CY, Chiu CW, Pamukçu AM, Bryan GT, (1976):** Identification of carcinogenic tannin isolated from bracken fern (*Pteridium aquilinum*). *J. Natl. Cancer I.*, 56, 1: 33-36.
- 37.Watson WA, Terlecki S, Patterson DSP, Sweasey D, Herbert CN, Done JT,(1972):** Experimentally produced progressive retinal degeneration (bright blindness) in sheep. *Br.Vet.J.*, 128: 457- 469.