

24955

T.C.
ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

**BRASSİCA OLERACEA VAR. CAPITATA EKSTRESİNİN
ANTİTÜMÖRAL ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI VE
ADENOZİN 5'TRİFOSFATAZ ENZİM SİSTEMİ ÜZERİNE OLAN ETKİSİ**

MASTER TEZİ

Lülöfer TAMER

DANIŞMAN
Prof. Dr. Turgay İSBİR

T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
DOKÜMANTASYON MERKEZİ

ADANA - 1992

İÇİNDEKİLER

No:	Sayfa
1. GİRİŞ ve AMAC.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Kanser Tedavisinde Kullanılan Bitkiler.....	3
2.2. Brassiceae Familyasının Genel Özellikleri.....	7
2.3. Lahana Türlerinin Tıpta Genel Kullanımı.....	8
3. HÜCRE ZARININ YAPISI.....	14
3.1. Zar Yapısı Bileşenleri.....	16
3.1.1.Lipidler.....	16
3.1.2.Proteinler.....	16
3.1.3.Karbonhidratlar.....	17
3.2 Adenosin Trifosfazat Enzim Sistemleri.....	18
3.2.1.Sodyum ve Potasyum Tarafından Uyarılan ve Aktivasyon İçin Magnezyuma Gerek Duyulan Adenosin-5'-Trifosfazat Enzimi.....	18
3.2.2.Magnezyum Tarafından Uyarılan Adenozin-5'-Trifosfazat Mg ²⁺ ATPaz	21
3.2.3.Kalsiyum Tarafından Uyarılan ve Aktivasyon için Magnezyuma Gerek Duyan Adenozin-5'-Trifosfazat.....	21
3.3. Zar Yapısında Meydana Genel Değişiklikler.....	23
3.3.1.Zar Yapısını Etkileyen Invitro Onkojenik Virus Transformasyonları.....	23
3.3.2.Normal ve Transaforme Hücrelerde Lektin.....	24
3.3.3.Transforme Sonucu Hücre Yüzeyinde Meydana Gelen Değişiklikler.....	25
4. ARAC GEREK ve YÖNTEMLER.....	27
4.1. Arac ve Gereçler.....	27
4.1.1.Kimyasal Maddeler.....	27

4.1.2. Cihazlar ve Diğer Gereçler.....	27
4.1.3. Araştırmada Kullanılan Deney Hayvanları.....	27
4.1.4. Ayıraçların Hazırlanması.....	27
4.1.4.1. Doku Homojenatlarının Hazırlanmasında Kullanılan Homojenize Edici Çözeltiler.....	27
4.1.4.2. Katı ve Sıvı Ascites Ehrlich Tümör Örneklerinin Patolojik İncelenmesinde Kullanılan Çözeltiler.....	27
4.1.4.3. Brassica Oleracea Var. Capitata Ekstresinin Antibakteriyel Etkisinin Araştırılmasında Kullanılan Besi Yerleri.....	28
4.1.4.4. İnorganik Fosfat Ölçümünde Kullanılan Ayıraçlar....	28
4.1.4.5. Adenozin-5'-Trifosfataz Enzim Sisteminin Tayininde Kullanılan İnkübasyon Ortamının Hazırlanmasında Kullanılan Ayıraçlar.....	29
4.1.4.6. Protein Tayininde Kullanılan Ayıraçlar.....	30
4.1.4.6.1. Folin Ciocelteau Ayıracağı.....	30
4.1.4.6.2. Standart Albumin.....	30
4.2. Yöntemler.....	31
4.2.1. Mus Musculus Balb/c Türü Farelerde Ehrlich Ascites Tümör Olusturulması.....	31
4.2.2. Brassica Oleracea Var. Capitata Ekstresinin Eldesi..	31
4.2.2.1. Brassica Oleracea Var. Capitata Ekstresinin Antibakteriyel Etkisinin Araştırılması.....	33
4.2.2.2. Brassica Oleracea Var. Capitata Ekstresinin Toksik Etkisinin Araştırılması.....	33
4.2.2.3. Ehrlich Ascites Tümörlerin Takip Edilmesi.....	34
4.2.2.3.1. Ehrlich Ascites Tümörlerinin Patolojik İncelenmesi	34
4.2.2.3.2. Tümörlerin Sitolojik Açidan İncelenmesi.....	34
4.2.3. Brassica Oleracea Var. Capitata Ekstresinin Sıvı ve Katı EAT Üzerine olan Etkisinin Araştırılması.....	35
4.2.3.1. Brassica Oleracea Var. Capitata Ekstresinin Sıvı EAT Üzerine Etkisi.....	35
4.2.3.3. Brassica Oleracea Var. Capitata'nın Tümör Oluşumunu Engelleyen Etkisi.....	36

4.3.	Adenozin 5' Trifosfataz Enzim Sistemi Spesifik Aktivitelerinin Ölçülmesinde Kullanılan Doku Homojenatlarının Hazırlanması.....	36
4.3.1.	Adenozin Trifosfataz Enzim Aktivitesinin Ölçümü....	36
4.3.2.	Adenozin 5' Trifosfataz Enzim Sistemi Tayininde Kullanılan İnkübasyon Koşulları.....	37
4.4.	Protein Tayini.....	40
5.	BULGULAR.....	41
5.1.2.	Brassica Oleracea Var. Capitata Ekstresinin Toksik Etkisi.....	41
5.2.	Sıvı Ehrlich Ascites Tümör Oluşturulması.....	43
5.2.2.	Katı Ehrlich Ascites Tümör Oluşturulması.....	46
5.2.2.1.	Brassica Oleracea Var. Capitata Ekstresinin Sıvı Ehrlich Ascites Tümörü Oluşumunu Koruyucu Etkisi....	50
5.2.2.2.	Brassica Oleracea Var. Capitata Ekstresinin Sıvı Ehrlich Ascites Tümörleri Üzerine Engelleyici Etkisi	51
5.2.2.3.	Katı Tümör Oluşumunda Lahana Ekstresinin Etkisi....	52
5.3.	Invivo Koşullarda Brassica Oleracea Var. Capitata ekstrelerinin Mus-Musculus Balb/c türü Farelerde Adenozin 5' Trifosfataz Enzim Sistemi Üzerine Etkisi	55
6.	TARTISMA.....	57
7.	ÖZET.....	64
8.	KAYNAKLAR.....	66

1. GİRİŞ ve AMAC

Değişik hastalıkların tedavisinde bitkisel materyaller yüzyıllardır kullanılmaktadır. Eski ve yeni literatürler incelendiğinde kansere karşı kullanılan bitkilerin 1400'ün üzerinde olduğu görülür. Son senelerde Cruciferae, Compositae, Euphorbiaceae, Cucurbitaceae, Leguminosae, Rutaceae, Apocynaceae, Rubiaceae bitkilerinin karsinogenezisi etkilediğini bildiren raporlar dikkati çekmektedir. Bu bitkilerin tüketilmesi ile insanlarda çeşitli kanser türlerinin insidansının azalması arasında ilişki görülmektedir(1,2). Bu bitkilerden izole edilen bazı maddelerin hayvanlarda karsinogenezisi inhibe ettiği bildirilmiştir(3,4,5).

Mikroorganizmaların, bitkilerin ve deniz hayvanlarının (deniz yıldızı, mercan v.b.) antitümör aktiviteleri 1950'lerin sonlarında Birleşik Devletler Ulusal Kanser Enstitüsü (United States National Cancer Institute NCI)'nün teşvik ve fonları ile bir çalışma programına alınmıştır. Program başlamasından günümüze kadar 114.000 bitkiden elde edilen 40.000 bitki ekstresinin antikanserojen etkileri araştırılmıştır(6)

Uraniuma maruz bırakılan tavşanlarda lahana ile beslenme sonucu ölüm oranını düşürdüğünü belirten araştırma Cruciferae bitkilerinin antikanserojen etkilerini gösteren ilk yayındır(7). Brassica Oleracea var. capitata yapraklarının sıçan embriyoblastlarında morfolojik değişiklikler yaparak mitoz bölünmeyi inhibe ettiği Şengün ve ark. tarafından rapor edilmiştir. Gürkan ve arkadaşları ise lahana ekstresinin bünyesinde bulunan alkaloid yapıda bir maddenin tümör ve embriyo hücrelerinin ölümüne neden olduğunu rapor etmişlerdir. Ayrıca Aflatoxin B₁ ile indüklenen kanserli sıçanlarda lahana ile beslenme, bir kanser merkezi olan plazma α -fetoprotein seviyesini düşürdüğü(3) ve yine lahana ile beslenmenin hepatik DNA-aflatoxin B₁ bağlanmasını inhibe ettiği rapor edilmiştir(8).

Yukarıda verilen literatür bilgisi ışığı altında bu çalışmamızda Çukurova Yöresinde yetişen Brassica Oleracea

var. capitanın petrol eteri eter ekstraksiyonu kademelerinden sonra elde edilen fraksiyonun antitümoral (Koruyucu ve tümör geriletici) etkilerini Mus-musculus Balb/c türü farelerde oluşturulan katı (solid) ve Sıvı Ehrlich Ascites tümörleri (EAT) üzerinde araştırmayı amaçladık.

Yaptığımız literatür araştırmamızda katı Ehrlich Ascites tümörlerinde sodyum-potasyum ve magnezyum adinozin - 5' trifosfataz ($\text{Na}^+ - \text{K}^+ \text{Mg}^{+2}$ ATPaz) ve kalsiyum-magnezyum adinozin-5' trifosfataz ($\text{Ca}^{+2} / \text{Mg}^{+2}$ ATPaz) enzimlerinin bir arada ve tek tek incelendiği bir araştırmaya rastlanmamıştır. Bundan dolayı katı tümör oluşum mekanizması ile adinozin-trifosfataz enzim sistemi arasında bir bağlantı kurulamamıştır.

Bu nedenle çalışmamızda Mus-musculus Balb/c türü farelerde oluşturulan katı tümör dokusunda $\text{Na}^+ - \text{K}^+ / \text{Mg}^{+2}$, Mg^{+2} ATPaz ve $\text{Ca}^{+2} / \text{Mg}^{+2}$ ATPaz enzim sisteminin bir arada incelenmesi öngörülmüştür

2. GENEL BİLGİLER

2.1. KANSER TEDAVİSİNDE KULLANILAN BITKİLER

Kanser tedavisinde kullanılan bitkiler ve bu bitkilerden elde edilen aktif maddeler konusu Dewick tarafından derlenmiş olup aşağıda bu bilgiler özetlenmiştir (Tablo I) (19). Cinsiler antitümör ilaç olarak 2000 yıl önce Podophyllum hexandrum bitkisinin kökünden elde edilen reçineyi kullanmışlardır. Podophyllum podophyllaceae familyasından nemli yerde bulunan uzun ömürlü bir ot cinsi olup Kanada ve USA'nın doğu bölümlerinde gölge ortamlarda yetişmektedir. Bu bitkinin Amerika'da yetişen cinsi olan Podophyllum peltatumdaki antitümör aktivitesi olan glikozitlerle ilişkili olduğu bildirilmiştir. P.hexandrum ve P.peltatum'da bulunan aktif maddeler Podofillotoksin ve Peltatindir. Bu iki etkin maddenin ilaç için kullanımları uygun olmamakla beraber podophyllotoxinin yarı sentetik türevleri olan etoposide ve teniposide klinik çalışmalarda iyi sonuçlar vermiştir. Etoposide küçük hücreli akciğer ve testicular kanserde, teniposide ise pediatrik kanser tedavisinde kullanılmıştır(9).

Yüksek bitki materyalleri içerisinde kanser tedavisinde en başarılı olanlardan bir tanesi de Catharonthus roeus'un alkaloidleridir. Bu bitkiden elde edilen dimerik indol alkaloidler içinde lösemi tedavisinde kullanılan vinkalekoblastin(Vinblastin) ve leukokristin (Vinkristin)'dir. Vinblastin genellikle lenf bezi, karaciğer ve dalağı etkileyen Hodgkin's hastalığında kullanılmaktadır. Vinkristin ise klinik bakımdan vinblastinden daha etkilidir ve özel olarak çocuk lösemi tedavisinde kullanılması önerilmiştir(9).

Brucea antidysenterica Etyyophada kanser tedavisinde kullanılır. Bu bitkinin sistematik fraksiyonu bruceantin izolasyonunu sağlar ki huda geniş doz aralığında küçük dozlarda yüksek antilökemik aktivite gösteren bir bileşiktir. Bruceantin protein sentezini inhibe eder ve bugünkü tedavi alanına girmiştir.

Cinli arastirmacilar Cephalotaxus harringtonineden elde edilen harringtonine esterlerinin birçok sistemde iyi aktivite gösterdiklerini C.harrington'nin alkoloidal fraksiyonlarini kullanarak yaptıkları çalışmalardan kabul edilebilir sonuçlar elde etmişlerdir. C.Harringtonea'nın solid tümörlü veya lökemialı hastalarda kullanılabilme umudu olduğunu göstermişlerdir(9).

Colchicine ve türevlerinin antitümör aktivite gözlemleri enterasandır. Colchicine mitotik zehir özelliğine sahip olduğu için bitkilerde geniş çaplı olarak kullanılır ve bu özelliği ile tümör inhibitör aktivitesi ile yakın bağlantılıdır(9).

Maytenus serrata ve Maytenus'un diğeri türleri maytensine içerir. Maytensine çok küçük dozlarda ($\mu\text{gr}/\text{kg}$) değişik deneysel neoplazmalara karşı aktif olup kullanılabilir terapeütik indeks göstermektedir. Genellikle mitozun inhibisyonu yolu ile etki ettiği saptanmıştır(9).

Doğal maddeler için rastgele seçilen tarama programı 1983 yılında Amerika Birleşik Devletleri Kanseri Enstitüsü (NCI) tarafından durdurulmuştur. Bu program insan kanserlerinin tedavisinde genel olarak kullanılacak tek bir etken madde bulunmadığını fakat çok sayıda sitotoksik ve antitümör ajanlar bulunduğunu göstermiştir. Ayrıca bu ajanların etki mekanizmaları ve kanser olayları hakkındaki bilgilerimizi bu program artırmıştır. 1986 yılında NCI daha küçük gruplar üzerinde yoğunlaştırdığı yeni bir tarama programı çalışmalarına da başlamıştır. Sentetik olarak 1940`larda nitrojen mustardların antilösemik karakteri görülmüştür. Etkilerini biyolojik alkilasyonla yaptıkları ve seçiciliği ve aynı dozun normal hücrelerde toksik olması bu maddenin dezavantajlarıdır. Avantajlı antikanser ilacının kanser hücrelerine etkili normal hücrelere ise zararlı olmaması gerekir. Bu ideal belki de imkansızdır. Sentetik ilaçlar fazla avantajlı olamamıştır. Bitkilerden elde edilenler daha iyi neticeler vermektedir. Maddelerin etkilerinin bulunup yapı tayini yapıp senteze

gidilmesi belkide en iyi yoldur. Bitkilerden elde edilen etkili maddeler 1400 cinsi kapsamaktadır. Standart neoplazmlarla çok az çalışma klinik çalışmalara kadar gidebilir. Yıllık olarak 25.000 madde de NCI tarafından tarama yapılmakta, bunlardan ancak 8-12 madde prelinik testler için seçilmektedir. NCI bitkiler, deniz hayvanları, mantar ve syanobakteri türlerinde çalışmalarını yoğunlaştırmıştır(9). Bunlar arasında usnik asid, ellagik asid, antrakuinon aloeemodin juglon ve lapakol kuinonları, pirolizidin alkaloidlerinden retronesin, monokrotalin, nitropenantren, aristolokik asid, bufadienolid helleksigenin asetat, colchicum alkaloidlerinden, kolçisin, 3-Demetilkolçisin, steroidal kukurbitasinler, lapakol, eliptisin, emetin ve nitridin alkaloidleri, suda eriyen N-glikozidlerdir. Bu maddeler toksik oluşu bakımından henüz klinikte kullanılmamaktadır(9).

Antitümör aktiviteli olanlar ve klinik çalışmaları yapılmamış olan bazı maddeler ise aşağıda özetlenmiştir(9).

- Tilokrebin(Fenantroindolizidin alkaloid)
- Talikorpin (Benzilizokuinolin alkaloidlerinden)
- Tetrondin,komptensin ve türevleri(alkaloid)
- Kuassenoidler veya siniaroubalidler(terpendrid ve ilgili maddeler.
- Brusenatin (Kuassinoid)
- Maytansin(ansa makrolid)
- Triptolid,taksol (triterpen),
- Alkaloid esterlerden harringtonin (siklik peptidlerden)
- Buvandin, deoksi buvandin, proteinler ve peptidler

Tablo I'de bitkilerden elde edilen maddelerden en önemlileri verilmiştir.

Tablo 1
Bitkilerden elde edilen bazı antitümoral maddeler

SINIFI	MADDE	BITKİNİN ADI	FAMILYASI	
Monoterpen	Allomandrin	Allamanda cathartica	Apocynaceae	
	4-1 pomeanol	Ipomoea batatas	Convolvulaceae	
	Pinstumud	Penstemon deustus	Scrophulariaceae	
Seskiterpen	Bakarın	Baccharis megapotomica	Compositae	
	Elephantorpin	Elephantopus elatus	Compositae	
	Helenalin	Helenium autumnale	Compositae	
	Liatrin	Liatris chapmanii	Compositae	
	Filantosid	Phyllanthus acuminatus	Euphorbiaceae	
	Fillantostatin I	P. acuminatus	Euphorbiaceae	
	Venotepin	Vernonia hymenolepis	Compositae	
Diterpen	Ginidin	Gnidia laprantha	Thymelaeaceae	
	Latrofan	Latropha gossypifolia	Euphorbiaceae	
	Mezeriin	Daphne mezereum	Thymeleaceae	
	Taksodion	Taxodium distichum	Taxodiaceae	
	Taksol	Taxus brevifolia	Taxaceae	
	Triptolid	Tripterygium wilfordii	Celastraceae	
	Kuasinoid/Simarobolid	Triptolid	T. Wilfordii	Celastraceae
		Brusantin	Brucea antidysenterica	Simaroubaceae
Glasorubinon		Simarouba glauca	Simaroubaceae	
	Holakanton	Holacantha emoryi	Simaroubaceae	
Titer penoid. Steroid etc.				
Cucurbitocin	Cucurbitacin E	Marah oreganus	Cucurbitaceae	
Saponin	Acer saponin P	Acerregundo	Aceraceae	
Kardenolid	Strophanthidin	Pruguetina nigrescens	Asclepiadaceae	
Bufadienolid	Helebrigenin asetat	Bersama abyssinica	Melanthaceae	
Vitanolid	Vitaferin A	Acnistus arborencens	Salanaceae	
Lignan	ve peltatin	Podophyllum peltatum	Podophyllaceae	
	Podofillotoksin	P. hexandrum	Podophyllaceae	
		P. Peltatum	Podophyllaceae	
		Juniperus chinensis	Cupressaceae	
		Steganotaenia araliacea	Umbelliferae	
Kinon	Siteganosin	Steganotaenia araliacea	Umbelliferae	
	Yakaranon	Jacaranda caucana	Bignoniaceae	
	Lapakol	Stereospermum suavedens	Bignoniaceae	
Alkaloid Piroliudin	Monokrotalin	Crotalaria Spectabilis	Leguminosae	
	Indisin-N-oksüd	Heliotropium indicum	Boraginaceae	

SINIFI	MADDE	BITKİNİN ADI	FAMILYASI
Izokinolin	Emetin	<i>Cephaelis acuminata</i>	Rubiaceae
	Tetrandinin	<i>Cyclea peltata</i>	Menispermaceae
	Talikarpin	<i>Thalictrum dasycarpum</i>	Ranunculaceae
Benzofenontirdin	Fogaronin	<i>Fagara zanthoxyloides</i>	Rutaceae
		<i>F. macrophylla</i>	Rutaceae
Penantroindolizidin	Nitidin tilokrebin	<i>Tylophora</i>	Asclepiadaceae
Akriden	Akronisin	<i>Acronychia beveri</i>	Rutaceae
Pridokarbazal	Eliptisin	<i>Ochrosia eliptica</i>	Apocynaceae
		<i>O. moorei</i>	Apocynaceae
		<i>O. maculata</i>	Apocynaceae
Pirolokinolin	9-Metoksielliptisin	<i>Camptotheca acuminata</i>	Nyssaceae
	Kamptotesin	<i>mappia foetida</i>	Olinaceae
Sefalotaksin	Harringtonin	<i>Cephataxus harringtonii</i>	Cephalotaxaceae
	Homoharringtonin	<i>C. harringtonia</i>	Cephalotaxaceae
Bisindol	Leurosın	<i>Catharanthus</i>	Apocynaceae
		<i>Lanceus</i>	
		<i>C. raseus</i>	Apocynaceae
Maytansinoid makrolid	Vinblastin	<i>C. raseus</i>	Apocynaceae
	Vinkristin	<i>C. raseus</i>	Apocynaceae
	Maytanacin	<i>Maytenus buchananii</i>	Celastraceae
	Maytansin	<i>Maytenus buchananii</i>	Celastraceae
		<i>M. serrata</i>	Celastraceae
Non-heterosiklik Peptid	Maytanvalin	<i>Putterlickia verrucosa</i>	Celastraceae
	Kolsisin	<i>Maytenus</i>	Celastraceae
	Bovardin	<i>Colchicinspeciosum</i>	Liliaceae
Peptid	Debksibovardin	<i>Bouvardia ternifolia</i>	Rubiaceae
		<i>B-ternifolia</i>	Rubiaceae

2.2 BRASSICACEAE FAMILYASININ GENEL ÖZELLİKLERİ

Cruciferae (Brassicaceae) ekserisi Kuzey Yarım kürenin ılıman ve bilhassa serin bölgelerinde yetişen, bir, iki veya çok senelik otsu, nadiren küçük çalı şeklinde bitkilerdir. Yapraklar alternan, basit, bazen parçalı, sitipulasızdır. Çiçekler erdişi, bilateral simetrik bazen zigomorf, ka-

liks 4 sepalden, korollo haç teskil eden 4 petalden yapılmıştır. Stamen adedi 6 (nadiren 4 veya 2), Stamenler tetradinam'dır. Ovaryum üst durumlu, 2 karpelli ve yalancı bir perdenin bulunuşundan dolayı 2 gözlüdür. Meyva tipik olarak silikva veya silikula, bazen nuks veya lomentum, tohumlar ekseriyetle müsilo; yağ ve yakıcı lezzetli kükürt glikozidleri taşırlar. Tohum içinde, embriyonun kokcuğu kıvrılmıştır ve iki kotiledonun ya yan tarafında ya da sırt tarafında yer almıştır veya iki kotiledon iç içe iki V seklinde boyuna bağılı olarak katlanmış ve kökçük bu kıvrım içine yerleşmiştir. Takriben 350 cins 2500 kadar türü vardır memleketimizde 85 cins ve 450'den fazla türü vardır. Bu familyanın kimyasal özelliği, bitkilerin kükürt glikozidleri taşımasıdır.

Brassica türleri sarı veya beyaz çiçekli bir veya çok senelik otsu bitkilerdir. Yaprakları basit veya lirat meyvalar dik, linear bir silikvadır. Valvler birer damarlı, tohumlar tek sıra üzerindedir.

Birçok Brassica türleri, çok eskiden beri kültüre alınmıştır ve halen sebze olarak veya tohumlarından yağ elde etmek amacıyla yetiştirilmektedir. Başlıcaları şunlardır.

B.oleracea var. Capitata (Başlı lahana) Bir sebzedir. Gövde (koçan) kısadır ve yapraklar sık bir şekilde birbirlerini örterek, büyük, sıkı bir baş teskil ederler.

B.oleracea var. acephala (karalahana, yapraklı lahana) koçan daha uzundur. Yapraklar seyrek, koyu yeşildir ve baş teskil etmezler. Bilhassa Karadeniz bölgesinde yetiştirilir.

B.oleracea var. botrytis (karnabahar) bir sebzedir. Yenen kısmı, henüz açmamış kesif çiçek durumudur.

B.oleracea var. gongylodes(alabaş) Gövdesi toparlak şekilde şişkin olan ve yenebilen bir bitkidir.

2.3. LAHANA TÜRLERİNİN TIPTA GENEL KULLANIMI

Lahana türleri nebati proteinler, nebati yağlar, resinemsi madde, alkol içinde eriyen maddeler içerir. Bütün mi-

nerolojik elementleri ve bunlardan genellikle kalsiyum ve kalsiyum nitratları ve kalsiyum sülfat, demir, magnezyum oksit, kükürt, bir çok keşfedilmeyen vitaminler ve bilhassa vitamin A ve C'yi içermektedir(10).

Kliniklerden yayınlanan raporlara göre Lahana suyu ile 45 günlük bir tedavi sonucu özellikle on iki parmak barsak tümörleri iyileşebilmektedir. Taze lahana yaprakları yaraların drene olmasını kolaylaştırmaktadır.

Taze lahana yapraklarının yara iyi edici özelliğide bu arada sözü edilmesi gereken bir başka yönüdür. Çeşitli nitelikteki tümörleri ve inatçı yaraların taze lahana yapraklarının tatbiki sonucu iyileşebileceği Gürkan ve arkadaşları tarafından rapor edilmiştir(11).

Astımda veya bronşit hastalıklarında sabah ve akşam olmak üzere göğüs ve karın üst kısmına dört adet büyük lahana yaprağından kompres yaparak faydalanılmaktadır(10).

Yanıklarda çok şiddetli ağrıları lahana yaprakları hem dindirir hem de yaraları tedavi eder(10).

Rahimdeki dokularında meydana gelen iltihaplarda da (Metritis) veyahut gayrı muntazam aylık kanamalar (Menorrhgel) gibi hastalıklarda yaprak kompresinin karın altına ve böbrek nahiyesine yapılması tavsiye edilir. Tırnak dibinde beliren ve halk dilinde dolama olarak tabir edilen (panarithen) iltihab yaprakla iki defa kompres yaparak bütün parmak sarıldığı takdirde en kısa zamanda iyileşmektedir. Ayrıca yaprakların konserve halinde de insan sağlığında yararlı olabildiğini belirtmekte yarar vardır. Konserve lahana özellikle barsaklarda çeşitli hastalıklarda etkili olmaktadır. Bu tür lahana C vitamin bakımından zengindir. Bu yüzden de C vit.in eksikliklerinde kullanılmaktadır. Konserve haldeki lahana pişirildiği takdirde tedavi edici yönü yok olmaktadır. Zira pişirilme esnasında içindeki süt asidi bakterileri harab olur, böylece de tedavi yönü çok yararlı olan asetil kolin parçalanır ve tüberkülozda dahi etkin rol oynayabilen konserve lahana bu niteliğini kaybeder.

Lahana veya lahananın suyunun gastrik sekresyonu ve peristaltizmini stimüle ettiği(12), kan şekeri seviyesini düşürdüğü(13), antibakteriyel etkili olduğu(14,15) gösterilmiştir. Bu arada lahananın laboratuvar hayvanlarında guatr oluşturduğu bilinmektedir(16). Lahanadaki guatrojenik maddeler identifiye edilmiştir(17,18)

Antitümöral etkileri: Epidemiyolojik çalışmalar, Brassicaceae bitkilerinin karsinogenezisi etkilediğini, bu tip bitkilerin çok tüketildiği yerlerde kanser insidansının azaldığını göstermiştir(1,2).

Ayrıca bu bitkilerden elde edilen maddelerin deney hayvanlarında denenmesi bu maddelerin hayvanlarda karsinogenezisi inhibe ettiğini göstermiştir(3,4,5). Lahana ile beslenen tavşanların yüksek öldürücü dozdaki uraniuma dirençli olduklarının gösterilmesi ilk antikarsinojen etkiyi bildiren rapordur(7). Bakteriyel mutagenesis deneyleri, lahananın suyunun bir çok maddenin mutajenik etkisini azalttığını göstermiştir(19). In vitro oluşan yüksek reaktivitesi olan sitotoksik, mutajenik veya karsinojenik elektrofilik metabolitlerin seviyelerini düşürerek karsinojen potansiyelini etkileyen enzim sistemlerindeki aktiviteleri değiştirerek bu bitkiler etkilerini gösterirler(20).

Brassicaceae bitkilerinin başlıca içeriği olan Indol-3-karbinol polünüklear aromatik hidrokarbonlar veya aflatoksin B₁ verilmesiyle oluşan kansere karşı birçok hayvan deneylerinde inhibitör madde olarak görünür. Önce veya oluşma sırasında verilmesi kansere karşı olduğu fakat "Rainbow troutda" (alabalık) aflatoksin B₁'le hepatosellüler karsinoma oluştuktan sonra Indol-3-karbinol verilmesi tümör oluşumunu daha da hızlandırdığı gösterilmiştir(21).

Brassicaceae bitkilerinde birçok glikozinolat bulunmaktadır. Glukobrassisin, glukotropaeolin ve glukosinalbin birçok hayvan modelinde çalışılmıştır. Glukobrassisin farede akciğer ve midede kimyasal madde ile oluşturulmuş neoplaziye ve sıçanlarda oluşturulan meme neoplazisine inhi-

bisyon yaptığı ayrıca koruyucu etkileri yanında glukobrasasinlerin hidroliz ürünü indol türevlerinin zararlı etkilerinin de olduğu bildirilmiştir(22). Bilinen indol maddeleri (indol-3-asetonitril, indol-3-karbinol) indol ve triptofanın gel permeasyon kromatografisi, HPLC, gaz kromatografisi ve kütle spektrometrik analizler ile ayrılan lahana ekstrelerinin fraksiyonları nitrit ile muamele edilerek mutagenliği ve N.nitroso içerdiği yönünden incelendiğinde indol asetonitril dışında hiçbirisinin nitrit ile oluşturduğu N.nitroso maddelerinin direkt mutagenik etkilerinde bir rolü olmadığı belirtilmiştir(23). Ülkemizde lahana bitkisinden elde edilen ekstrelerin biyolojik aktiviteleri üzerinde ilk çalışma Altinkurt tarafından yapılmıştır(24). Bu çalışmada B oleracea var.capitata yapraklarının sudaki ekstresinin kobay ileum ve uterusunda, sıçan ileumunda ve horoz çekumunda kontraktüran etkili olduğu, aynı zamanda izole kurbağa kalbinde ise negatif inotrop etkiyle diyastolde kalbi durdurduğu gösterildi.

Biyokimyasal Etkileri: Yaşlanma ve karsinogenesis teorilerinin içinde DNA merkezi bir noktadır(25,26). Son çalışmalar hepatik DNA bozulmasının (tek iplik kırılması) farede yaşlanmayla ortaya çıktığını göstermiştir(27). Tek iplik DNA kırılması ile indirgenmiş glutatyon(GSH) arasında direkt korelasyon olduğu gösterilmiştir. Glutatyon hücrelerdeki protein olmayan bir tioldür ve hücredeki makromolekülleri; serbest radikallerden, oksidantlardan, ilaçların ve yabancı kimyasal maddelerin elektrofilik ana ürünlerinden korunmasında büyük rol oynadığı bilinen bir faktördür(28, 29). Hücre içinde glutatyonun azalmasıyla birlikte glutatyon metabolizma enzimleri yaşlanmış farelerin dokularında azalır (30,31). Butillenmiş hidroksianisol(BHA), butillenmiş hidroksitoluen(BHT) ve etoksiquin gibi antioksidan maddelerle beslenen kemiricilerde yaşlanma gecikmiş ve bunların kansere engel olduğu gösterilmiştir (32,33). Antioksidan olarak lahananın az etkili olduğu görülmüştür. Aynı anda DNA'nın bozulmasında azalmada antioksidanlarla saptanmıştır. Son

zamanlardaki çalışmalar antioksidanların yaşamı uzattığını göstermişlerdir(34,35). Karsinojenlerle hayvanlarda oluşturulan neoplazma insidansını antioksidanların azalttığını gösterilmiştir(32,33).

Antioksidanlar direkt veya dolaylı olarak endojen serbest radikalleri veya xenobiyotiklerin aktif elektrofilik ara maddelerini inaktive ederek DNA ile birlikte hücrel makromoleküllerin bozulmasına mani olurlar.

Cruciferous (Brassicaaceae) bitkileri indol-3-karbinol, 3.3-diindolilmeton ve indol 3-asetonitril ihtiva ederler. Bu kimyasal maddeler antineoplastik aktivite gösterirler ve mikrozomal karışık fonksiyon oksidaz sistemini ve glutatyon S-transferaz aktivitesini artırırılar. Ayrıca Tioltiyonlara da bu bitkilerde bakılmıştır(32). 18 aylık dişi farelerin liyofilize lahana ile beslenmesi sonucu hepatik GSH miktarının yükseldiği, glutatyon redüktazın ve glutatyon S-transferazın yükseldiği görülmüştür. Hepatik DNA bozulması (tek zincir kırılmalar), lipid peroksidasyonunun (malodialdehid) azaldığı görülmüştür. Antioksidant yüksek diyetler yaşlanma ve kanser ile ilgili serbest radikal reaksiyon olaylarını geciktirmede etkilidir(36). Glutatyon-S-transferaz (GST), başlıca kimyasal karsinojenleri de içeren birçok elektrofilik kimyasalların glutatyona bağlanmasını temin eden majör detoksifikasyon enzim sistemidir. Cruciferous bitkileri bu sistemi etkilerler(37,38).

Glukosinolattan zengin diyetle beslenen sıçanlarda böbrek ve tiroide büyüme, üreme egrisinde artış plazma T_3 ve T_4 'de artış gözlenmiştir. Glukosinolattan zengin diyetde, hepatik mikrosomal P450 spesifik aktivitesinde azalma, hepatik glutathione S-transferazda artma ve UDP-flukuronil-transferaz spesifik aktivitesinde artış görülmüştür. Ayrıca bu enzimlerin fenobarbitalin etkisini de fazlalastırdığı görülmüştür (39). Lahanada bulunan glukosinolatta laktasyonda sütle atılırlar, toksin olup çocuklarda toksisiteye sebep olabilir. Selenyum bu toksik etkiye karşı çıkabilir(40).

Diyetle verilen Brüksel lahanası'nın Fisher ratlarda karaciğer, ince barsak mukozasında glutatyon S-transferaz (GST) subünitelerini uyardığı bildirilmiştir. Substratı: 1-kloro-2, 4-dinitro benzene karşı % 2.5 Brüksel lahanalı diyet % 15 GST'yi aktive etmiş % 30 Brüksel lahanalı diyet % 180 GST'yi aktive etmiş. Sinigrin ve progoitrin seviyeleri Brüksel lahanasında 1835 ve 415 milimikromol/kg olarak bulunmuştur. Brüksel lahanasındaki en az iki madde, alilisotiosiyanat ve goitrin, GST'yi artıran maddeler olduğu bildirilmiştir(41). Sprauge-Dawley sıçanlar Cruciferae sebzelerinde bulunan (50-500 ppm) indon-3-karbinol(13 C) ve/veya % 25 Brüksel Lahanası ile 10 gün diyete tabi tutulmuş Karaciğer ve barsak mukozasında sitozol ve mikrozom fraksiyonlarının aktivitelerine bakılmıştır. Doza bağımlı olarak 13 C ve Brüksel lahanası ile bazal açıl hidrokarbon hidroksilazın arttığı (AAH), bazal etoksi kumarin o-dietilazin(ECD) arttığı, hepatik AHH ve ECD'nin etkilenmediği görülmüştür(42).

Nitrojen mustard grubundan alkilleyici etkili bir antikanser ilaç olan melphalanın tek doz uygulamasından sonra insan gastrik karsinoma AGS-6 hücreleri doku kültüründe bu ilaca karşı dirençlilik kazanmasının sebebini glutatyon düzeylerinin melphalan ile 1.5-3.0 misli yükselmesi olduğu glutatyon düzeyini düşüren butionin sulfoksimin ile kombine tedavisinin dirençliliğe mani olduğu gösterilmiştir(43).

Farelerde 4 hafta lahana diyetinden sonra anilin hidroksilaz ve NADPH Sitokrom C redüktaz aktivitesinde düşüş görülmüştür, testis ağırlığının Sprauge-Dawley (SP) sıçanlarda fazlalaştığı, tiroid ağırlığının Long-Evans (LE) farelerde arttığı aminopirin N-demetilazin ise (LE de hariç) SD ve Fischer sıçanlarda yükseldiği, timus ağırlığının hepsinde azaldığı bildirilmiştir(44). Lahana ve diğer Brassica türlerinin ihtiva ettiği nitrosaminlerin sitokrom P-450'ye bağlı enzimlerin uyarılmasına ve bunların karaciğerde tümör oluşturuca faktör olduğunu sıçanlarda gösterilmiştir. Dimetil ve dietil nitrosaminlerin tek dozla sıçanlarda etkili olduğu,

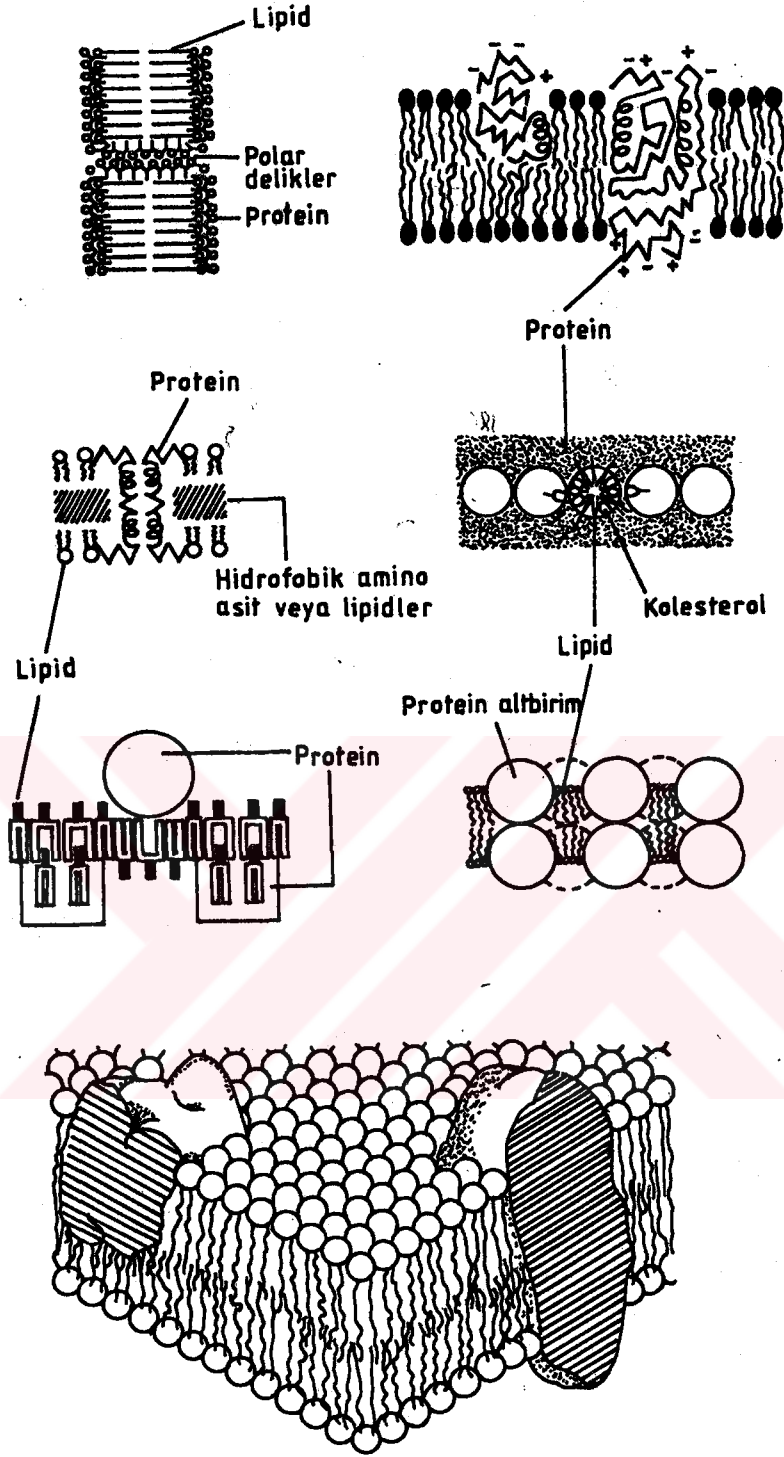
Brüksel lahanası ile hepatoselüler karsinomaların ancak yüksek dozla olabileceği bildirilmiştir(45).

Sıçanlarda lahana ile tek doz beslenmenin 5-6 saat sonrası ince barsakta karışık sistemli oksidaz enzim sistemi ["miksed-function-oxidase"(MFO)] aktivitesinin yükseldiği gösterilmiştir. Brüksel lahanasının metanol-su eksresi karaciğerde, ince ve kalın barsakta MFO'yu uyarmıştır. Ekstre dışında kalan polar artık maddeler MFO aktivitesini etkilememiştir. Tioglikosidler ve glukosinolatlar ekstredeki aktif maddeler olarak bulunmuştur. Brüksel lahanasında bulunan sinigrin, progoitrin, glukobrossisin ve glukotropaeolin gibi glukosinolatla tek tek sıçanlara verildiğinde sadece indol glukosinolatla, glukobrassisin, MFO aktivitesini indüklemiştir(46).

3. HUCRE ZARININ YAPISI

Bu gün için geçerli model olan sıvı-mozaik modeli 1972 yılında S.Jonathan Singer ve Garth Nicolson tarafından önerilmiştir(47). Bu modele göre biyolojik zarlar fosfolipid çift tabakalarından oluşmakta ve fizyolojik şartlarda bu çift tabaka sıvı halde bulunmaktadır. Fosfolipid moleküllerinin yağ asitleri taşıyan tarafı polarize olmamış, suda erimeyen hidrofob bölümdür. Molekülün diğer ucu polarize olmuş, suyu seven (hidrofil) Kolin etanolamin gibi nitrojenli fosfat bölümüdür. Polar uçlar dıştaki sulu ortama yönelirken, hidrofobik kısımlar zarın omurgasında apolar bir çevre meydana getirmektedir. Çok sayıda protein ve glikoprotein asimetric olarak çift tabakada yer alarak, onun devamlılığını bozmakta ve böylece zara mozaik görünümü vermektedir.

Günümüze kadar çeşitli araştırmacılar tarafından önerilen zar modelleri şekil (1)'de gösterilmiştir(48).



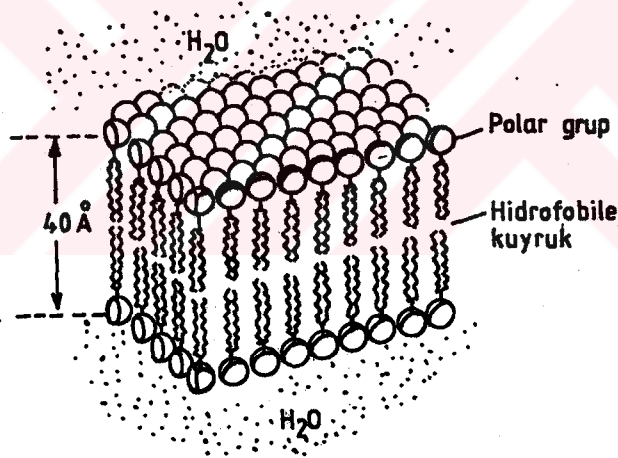
Sekil (1): Çeşitli Zar Modelleri:
a) Goldup, Ohkinebonielli
b) Singer ve Nicholson
c) Leonard ve Singer
d) Lucy
e) Kreutz ()
f) Vandekool ve Green ()
g) Mozaik model

3.1. ZAR YAPISI BİLEŞENLERİ

3.1.1. LİPIDLER

Lipidler birçok biyolojik rollere sahiptir. Major membran lipidler; fosfolipid, glikolipid ve kolesteroldür.

Fosfolipidler: Lesitinden türemiştir. Bütün tabii kaynaklı lesitinler L.konfigürasyonu gösterir ve gliserol taşırlar. Bunun dışında hücre zarında fosfatidil etonolamin, fosfatidil inositol, fosfatidil serin ve sfingomyelin bulunur. Lipid tabakası içinde fosfolipid asimetrisi mevcuttur. İç ve dış tabakada toplam fosfolipid dağılımı eşittir. Zar çift tabakasında fosfolipid orientasyonu şekil(2)'de sematik olarak gösterilmiştir.



Şekil (2) Zar çift tabakasında fosfolipid orientasyonu

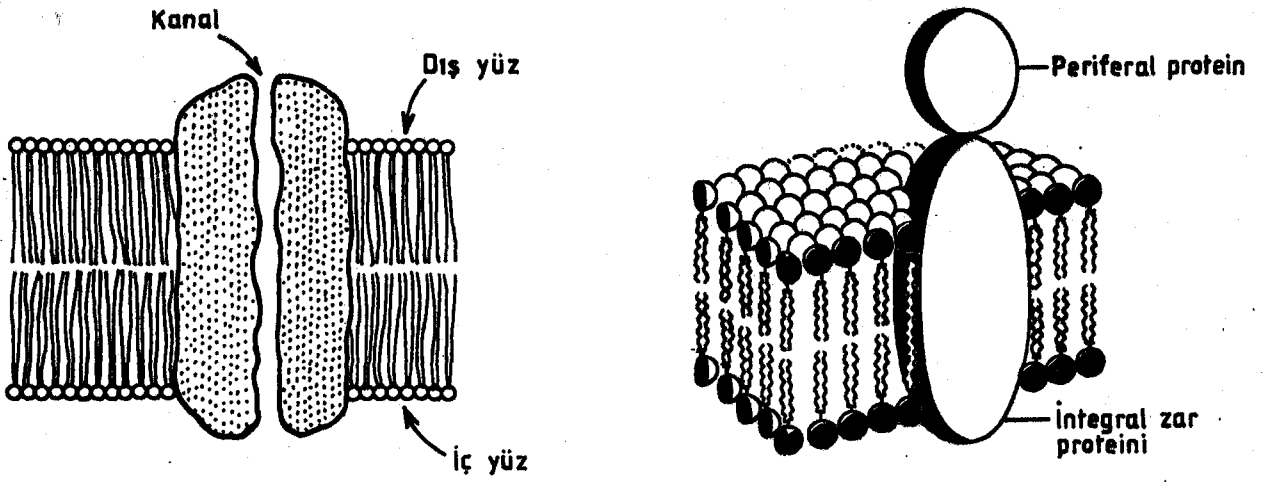
Glikolipidlerin polar kısmı karbonhidrat molekülü içerir. Bu karbonhidrat D.glukoz veya D.galaktozdur. Glikolipidlerin bazıları sfingozin bazıları ise gliserol içerir. En basit glikolipid, glikosildiasol gliseroldür. Gangliositlerde ise polar grub oligosakkariddir. Glikolipidler zarın dış yüzeyinin yarısına yakın kısmını teşkil ederler(49,50).

Kolesterol, zar sistemi içinde yer alan önemli komponentlerden biridir. Kolesterol zarın dış yüzeyinde iç yüzeyine göre iki misli daha fazla bulunur. Kolesterol hidroksil grubunu su/lipid fazında sıkıştırarak hidrofobik kısmı ile lipid tabakasında çözülmüş olarak bulunur. Bu yerleşmesi ile fosfolipidlerin hidrokarbon zincirlerinin molekül hareketliliğini kısıtlar ve daha az akışkan olmasına neden olur. Kolesterolde zengin zar yapıları bu yüzden daha kısıtlı hareketlilik gösterir. Değişik hücrelerin ve değişik türlerin zar yapıları kolesterol içeriği açısından çok değişiklikler gösterirler. İşlevsel açıdan ise kolesterol içeriği ile bir korelasyon gösterir. Kolesterol hayvansal zarlarda bitkilere oranla daha fazla miktarda bulunmaktadır (51,52,53)

3.1.2. PROTEİNLER

Zarda bulunan proteinler lipid tabakasının içinde çeşitli şekillerde bulunurlar. Zar proteinlerinin bir kısmı lipid tabakasının içine gömülüdür. Bunlara "İntrinsik Proteinler" denir. Rodopsin ve Sitokrom oksidaz bunlara en belirgin örneği teşkil eder. Bir kısım proteinler ise lipid tabakasının içinde ve dışında yer alırlar. Bunlara "Ektrinsik Proteinler" denir. Bu proteinlere ise adenozin-5'-bifosfataz ve spektrin örnek olarak verilebilir(54,55).

Ektrinsik proteinler sulu ortamla temas halinde oldukları için hidrofilik amino asitleri, intrinsik proteinler ise bir tarafları ile yağ tabakasına gömülü oldukları için bu kısımlarında hidrofobik amino asitleri, diğer tarafları sulu ortamla temasta olduğu için de o taraflarında hidrofilik amino asitleri taşırlar. Şekil(3) de lipid çift tabakasında integral ve periferel proteinlerin yerleşimi görülmektedir.



Sekil 3: Lipid çift tabakası içerisinde zar proteinlerinin yerleşimi

3.1.3. KARBONHİDRATLAR

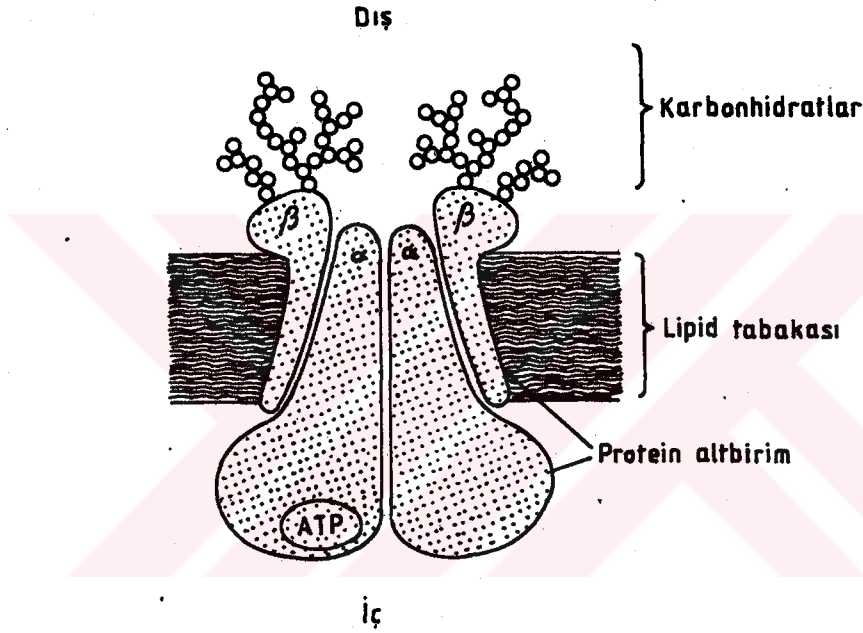
Diğer bir zar bileşeni ise karbonhidratlardır. 1.60 arası kovalan bağlı karbonhidrat ünitesi içeren proteinler işlevleri açısından büyük bir fonksiyonel öneme sahiptir. Karbonhidrat zincirleri düz veya dallı yapıdadır. Molekül ağırlıkları glikoproteinlerin % 90'ı kadardır. Sakkaritler genel olarak N-asetil nöromanik asit, Galaktoz, mannoz, N-asetilgalaktozamin ve N-asetil glukozaminden meydana gelmiştir. Bunlar proteinlerle değişik şekillerde bağlanmıştır

3.2. ADENOZİN TRİFOSFATAZ ENZİM SİSTEMİ

3.2.1. Sodyum ve potasyum tarafından uyarılan ve aktivasyon için magnezyuma gerek duyan Adenosin 5'-Trifosfataz enzimi ($\text{Na}^+ - \text{K}^+ / \text{Mg}^{+2}$ ATPaz E-C-3-6-1-3)

1939'da Engelhardt ve Lyubimova miyozinde ATP'yi hidroliz eden ATPaz aktivitesini gösterdikten sonra, enzimin kasın kasılmasıyla ilişkisi üzerinde çalışmalar yapılmıştır. 1941 yılında skou ve arkadaşları kas zarlarında yaptıkları çalışmalarla hücre dışı ve hücre içi konsantrasyon farkının bir pompa tarafından düzenlendiği şeklindeki görüşlerini

deneysel olarak göstermişlerdir(56,57,58). Şekil (4)'de $\text{Na}^+ - \text{K}^+ / \text{Mg}^{2+}$ ATPaz enzimine ait Sweadner ve Goldin(48) tarafından önerilen model görülmektedir. Bu modelde enzim alfa ve beta alt birimlerinden meydana gelmiştir. Beta alt birim glikoprotein yapısında olup enzim sisteminin dış yüzeyinde yer almaktadır. Enzimin K^+ ve Ouabain bağliyan Oligosakkaridlerde dış yüzeyde yer almaktadır. Buna karşılık Na^+ ve ATP bağliyan kısımlar ise zarın iç yüzeyinde yer aldığı kabul edilmektedir.



Sekil 4: $\text{Na}^+ - \text{K}^+ / \text{Mg}^{2+}$ ATPaz modeli

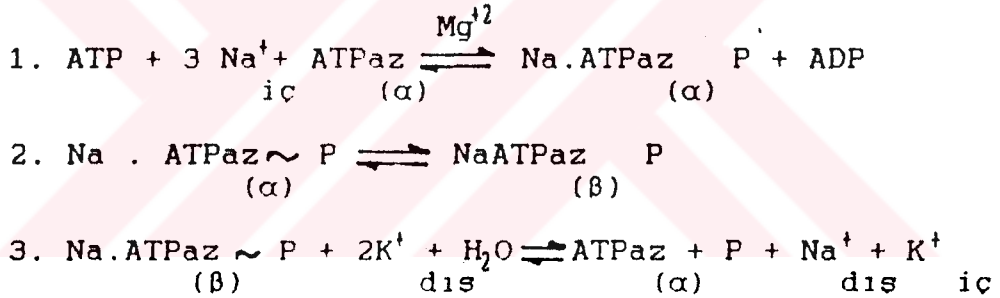
1949'da Flynn ve Maizel K^+ 'un eritrosit zarından içeri girişinin içteki Na^+ konsantrasyonunun düşük olduğunda azaldığını, Na^+ 'un dışarı çıkışının ise dıştaki K^+ konsantrasyonunun düşük olduğunda azaldığını göstermişlerdir(56).

1952'de Hodgkin ve Huxley kasılmalar sırasında Na^+ 'un sinir hücresi zarında iyon konsantrasyonuna karşı atıldığını ve bu işlemin ATP hidrolizi ile paralel gittiğini göstermiştir(57,58,59,60). Hidrolize olan her ATP başına 3 mol Na^+ 'un dışarı atıldığı yapılan ölçümlerde gösterilmiştir. Ayrıca eritrositlerde dışarı atılan her 3 mol Na^+ karşılık 2 mol K^+ 'unda içeri taşındığı bilinmektedir. Na^+ ve K^+ iyonlarının

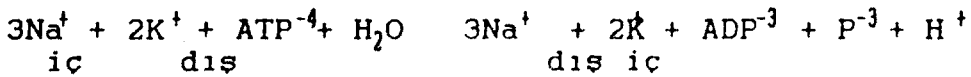
fosforilasyon ve defosforilasyon şeklinde döngüsel bir değişim ile hücre içi ve dışı arasında taşındığı bugün için kabul edilen görüştür(60).

$\text{Na}^+ - \text{K}^+ / \text{Mg}^{+2}$ ATPaz'ın katalitik etkisi şekilde verilmiştir. İlk basamakta ATP'deki pürin halkasının 6 amino grubu, ribozun 2-OH ve β -pirofosfat enzimine bağlanır. İkinci basamak, enzimin ATP varlığında sodyum ve magnezyuma bağımlı fosforilasyonu ile yüksek enerjili $\text{E}_1 \sim \text{P}$ arabilesiği oluşumuna karşılık gelmekte üçüncü basamak ise enzimin yüksek sodyum ilgisinden yüksek potasyum ilgisine dönüştüğü düşük enerjili $\text{E}_2\text{-P}$ şeklinde belirlenen arabilesiği oluşturmaktadır. Sonuçta potasyum uyardığı defosforilasyonla enzim tekrar orijinal konformasyonunu kazanmaktadır.

Yukarıda açıklanan reaksiyon dizileri aşağıdaki şekildeki gibi özetlenebilir.



Yukarıda verilen reaksiyonun veterial denklemi ise aşağıda gösterildiği şekilde yazılabilir.



Magnezyum, enzim substrat kompleksinin bir parçasıdır ve enzim maksimum aktivasyonu ATP ve magnezyum miktarı 3 mM olduğu ortamda gösterir(50). Enzim, aktivitesini kalsiyum iyonu 1/1 olan $\text{Mg}^{+2}/\text{ATP}$ oranını değiştirerek inhibe olur. Enzimin Km değeri ATP için 0.38 mM, magnezyum için 0.5 mM olarak belirtilmiştir(60).

Zara bağımlı bir çok amin gibi taşıma işleminden sorumlu ATPaz enzimleride aktivite için fosfolipidlerin var-

lığına gereksinim duymaktadır(50). Deterjan ve organik çözücülerle lipidlerin zardan izolasyonu ve bunların tekrar zara eklenmesi sonucu zar bütünlüğünün fosfolipid içeriğinin ve fosfolipidlerin yapısındaki yağ asitlerinin enzim aktivitesine etkisi ile ilgili birçok çalışmalar bu bağımlılığı kanıtlamaktadır(50).

Fosfolipaz A enziminin zardaki tüm fosfolipidleri, fosfolipaz C enziminde lesitinleri 2/3 oranında parçalayarak bu enzim aktivitesini önemli derecede azalttığı kaydedilmiştir. Yalnızca fosfotidil serinin kaldırılmasında hem defosforilasyon hem de fosforil enzim oluşumunda önemli işlevi olması nedeniyle $Na^+ - K^+ / Mg^{+2}$ ATPaz'ın çeşitli glikozidler, sülfidril bileşikleri oligomisin butadion ve vonodat tarafından inhibe edildiği çeşitli çalışmalarla rapor edilmiştir (50,61).

3.2.2. Magnezyum Tarafından Uyarılan Adenozin 5'-Trifosfataz Mg^{+2} ATPaz:

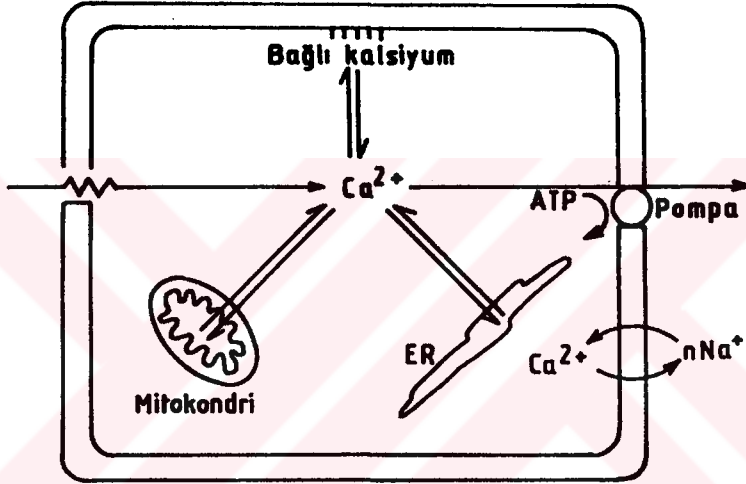
Magnezyum iyonunun transportundan sorumlu olan Mg^{+2} ATPaz enzimi hakkındaki klasik bilgilerimiz bu gün için tam değildir. Seker ve fosfatların taşınmasından sorumlu olduğu ileri sürülmektedir. Yalnız nörotransmitterlerin taşınmasından sorumlu olduğu kesinlik kazanmış gibidir(62).

3.2.3. Kalsiyum Tarafından Uyarılan ve Aktivasyon için Magnezyuma Gerek Duyan Adenozin 5'-Trifosfataz (Ca^{+2}/Mg^{+2} ATPaz-EC 3.6.1.3)

Daha çok sarkoplazmik retikulumda çalışılan bu enzim kalsiyum iyonlarının taşınmasından sorumludur(63,64). Kas hücrelerinin sarkoplazmik retikulumundan başka sarkolemma ve eritrosit zeminde, trombositlerde, beyin mikrozomlarında, plasenta, sinir hücresi, böbrek tübüler hücreleri ve salgı bezlerinde Ca^{+2}/Mg^{+2} ATPaz enzimin varlığı gösterilmiştir(65)

Eritrosit zarı Ca^{+2}/Mg^{+2} ATPaz'ı 150.000 moleküler ağırlıktadır. Bir ATP bağlanma, bir fosforilasyon ve iki kalsiyum bağlanma bölgesine sahiptir(64,65).

Ca^{+2}/Mg^{+2} ATPaz, eritrositlerde her mol ATP hidrolizi ile bir yada iki kalsiyum iyonu taşınmasını sağlamaktadır. Bu enzim içinde $Na^{+} - K^{+} / Mg^{+2}$ ATPaz enziminde olduğu gibi, Mg^{+2} ATP gerçek substrat olarak önerilmektedir(66). Divalan katyonlardan mangan ve kobalt % 70 verimle kalsiyum gereksinimini karşılayabilmekte, baryum ve bakır ise aktivasyonu inhibe etmektedir. Ancak monovalan katyonların inhibitör yada uyarıcı etkisine ait hiçbir sonuç gözlenmemiştir. Şekil 5'de görüldüğü gibi enzimin katalitik etkisi konusunda $Na^{+}-K^{+}/Mg^{+2}$ ATPaz için önerilen mekanizmanın benzeri önerilmektedir (64,65).



Şekil 5: Ca^{+2} / Mg^{+2} ATPaz+'ın Etki Mekanizması

Etki mekanizmasında ATP'nin Ca^{+2}/Mg^{+2} ATPaz'a bağlanmasının magnezyum iyonuna gereksinim duyması, bu enzimi $Na^{+}-K^{+} / Mg^{+2}$ ATPaz'dan ayırt edici niteliktedir(65).

Bu enzimin, Ouabainin $Na^{+} - K^{+} / Mg^{+2}$ ATPaz üretiminde olduğu gibi özgün bir inhibitörü olmadığı, ayrıca oligomisinden etkilendiği de rapor edilmiştir(66). Vanadatın Ca^{+2}/Mg^{+2} ATPaz üzerindeki inhibitör etkisinin olduğu, ancak yarı inhibitör konsantrasyonunun $Na^{+}-K^{+} / Mg^{+2}$ ATPaz'da olduğundan daha yüksek olduğu kaydedilmiştir(50,66).

Yine Ca^{+2}/Mg^{+2} ATPaz aktivitesinin $Na^{+}-K^{+}/Mg^{+2}$ ATPaz'da olduğu gibi fosfolipidler fosfolipidlerdeki yağ asitlerinin doymuşluğuna, dolayısıyla rotasyon yeteneğine bağımlı olduğu konusunda bir çok araştırma bulguları mevcuttur(66).

3.3. ZAR YAPISINDA MEYDANA GELEN DEĞİŞİKLİKLER

Virüs ile hücrenin ilk karşılaşması, virusün yarattığı zararın hücre zarı ile yakın bağıntısı, immün sistemle enfekte hücre arasında da yer alan olaylar ve interferonun koruyucu etkisi hücre zarında meydana gelen olaylardır.

a) Zar yapısını etkileyen invitro virus enfeksiyonları: Viruslar enfekte edip ürettikleri hücrelerden otolizis veya tomurcuklanma ile olgunlaşırlar. Otolizis ile olgunlaşan viruslar çıblak diye isimlendirilirler. Bunlar nükleik asit ve onu çevreleyen protein kılıfı(kapsit) içerirler. Çıblak virus enfeksiyonunda konak hücre parçalanmış ve bu enfeksiyon hücre için ölümle sonuçlanmıştır. Ancak bazı viruslar enfekte edildikleri hücrenin zar yapısına peplikasyonları bazı viral proteinleri yerleştirirler. Bu çeşit virus-konak hücre ilişkisi uzun ömürlüdür. Çünkü nükleik asit ve kapsit yapısına ilaveten virus hücreden çıkarken kendi proteinleri ile değiştirdiği hücre zarından bir zarf alır. Olgunlaşması tomurcuklanma ile olan bu viruslara "zarflı viruslar" denir. Viruslar enfekte ettikleri hücrenin ölümüne zarda geçirgenlik değişiklikleri yaratarak neden olurlar. Değişik tür hücrelerde invitro enfeksiyon yaparak birkaç çeşit virusun gerek zar da mevcut taşıyıcıları gerekse taşınım için gerekli iyon pompalarını etkilediği bulunmuştur(67).

3.3.1. Zar Yapısını Etkileyen Invitro Onkogenik Virus Transformasyonları

Bir virusun onkogenik potansiyeli o virusun invitro olarak hücreleri transforme edebilme kabiliyetine bağlıdır. Transforme hücre etken virusun replikasyonunu destekler veya desteklemez. Örneğin RNA onkogenik virusları ancak üremedikleri hücreleri transforme ederler(67).

Transforme hücre normal hücreden farklı bir biyolojik karakter kazanır. En önemli fark, hücre zarında meydana gelen antijenik değişikliklerdir. Bu değişiklik viral gen tarafından sentezlenen tümöre has transplantasyon antijen (T

STA) tarafından sağlanır. Onkojenik transformasyondan genellikle 3-5 viral gen sorumludur.

Zarda meydana gelen değişikliklerin, kontakt inhibisyonunun kaybolması, hücre morfolojisinin değişmesi, yumuşak agarda üreyebilme kabiliyetinin kazanılması ve hücre ceperinin özelliklerinin değişmesi olarak tanımlanır.

3.3.2. Normal ve Transformem Hücrelerde Lektin (Reseptörlerinin Dinamiği):

Tümör hücrelerinin veya transforme hücrelerin en belirgin özelliği bu hücrelerin normallerine göre daha düşük lektin derişimlerinde aglutine olabilmeleridir. Ancak transforme hücrelerin içerdği lektin reseptörleri sayısı hakkında çelişkili fikirler ortaya atılmıştır. Örneğin bazı araştırmacılar lektin reseptör sayısının değişmediğini ileri sürerken Neonon ve Burger isimli araştırmacılar ise transforme veya proteaz ile muamele edilmiş hücrelerin normallere göre sayıca fazla lektin reseptörlerinin bulunduğunu bildirmişlerdir (67).

Floresans mikroskopisi ve elektron mikroskopi yöntemleriyle transforme hücre yüzeyinde bulunan lektin reseptörlerinin bulunduğunu bildirmişlerdir.

Normal hücrelerin proteolitik enzimlerle muamelesi sonucunda aglutinasyon özelliklerinin transforme hücrelere benzer bir şekilde arttığı görülmüştür. Bunun nedeninin kapalı bulunan(cryptic) lektin reseptörlerinin proteolitik enzimler tarafından açığa çıkarılmasından kaynaklandığı ileri sürülmüştür(68).

Bazı hücrelerin onkojenik olmayan viruslarla enfeksiyonu sonucunda lektin aglutinasyonunda transforme hücrelerde olduğu gibi bir artış saptanmıştır. Vaccinia virusu ile enfekte hücrelerde enfeksiyondan iki saat sonra viral veya konak DNA sentezin gerek olmadan Con A aglutinasyonunda önemli bir artma görülmüştür(69).

3.3.3 Transforme Sonucu Hücre Yüzeyinde Meydana Gelen Değişimler

Tümör hücrelerinin veya invitro transforme hücrelerin yüzeyinde normal hücrelerden farklı bir takım değişikliklerin meydana geldiği gözlenmiştir.

Hücrelerde önemli yüzey bileşenleri, proteinler, glikoproteinler, lipidler, glikolipidler ve glikozaminoglikanlardır. Bunların bir kısmı hücre yüzeyinde antijen ve tanıma bölgeleri olarak görev yaparlar(67).

İnsan kolon, mide, göğüs tümörlerinin normal dokulara göre daha fazla sialik asit taşıdıkları saptanmıştır. Buna karşın transforme hücre kültürlerinde bunun tersi gözlenmiştir. Bu nedenle hücre yüzeyi neoplastik durumlarda sialik asit yönünden genel bir tanıtıcı özellik durumunda değildir(67).

Hücre yüzeyinde en önemli değişiklik heksozaminler ve heksuronik asit içeren glikozamin glikanlarda gözlenir. Çeşitli viruslarla transforme edilmiş hücrelerin normallere göre hiyaluronik asit sentez hızlarının ve hücre yüzeyi hiyaluronik asit miktarlarının daha fazla olduğu gözlenmiştir. Ayrıca transforme hücrelerde sülfatlanmış glukozamin glikonların sentezinin normallere göre düşük olduğu saptanmıştır(67).

Değişik tümörlerde ve transforme hücrelerde zar lipid ve glikolipid yapılarında genel değişiklikler olduğu gözlenmiştir. Bir çok malign insan tümöründe kolesterol ve fosfolipid miktarlarının normal dokuya veya benign lezyonlara göre daha yüksek olduğu gözlenmiştir. İhblar ve shinitzky isimli araştırmacılar murine ascites lenfoma plazma zarının kolesterol miktarının zarın akışkanlığını ayarlaması ile kontrol edici bir işlevi olduğunu bildirmişlerdir. Hamater NIL fibroblast hücrelerinin çeşitli viruslarla transforme edilmesi sonucunda glikolipid yapısında aşağıdaki değişiklikler gözlenmiştir(67).

a) Karmaşık glikolipidlerde azalma ile beraber terminal sakkarit ünitelerinde kopma

b) Glikolipid sentezinin terminal sakkaritlerin

katılması sonucu yüzeyel dokunma uzantılarına cevabındaki eksiklik.

c) Enzim antikor ve lektinlerin bağlanma özelliğindeki artış.

Transformasyondan sonra hücre yüzeyinde gözlenen en önemli değişiklikler çeşitli işaretleme yöntemlerine duyarlı protein ve glikoproteinlerin hücre yüzeyindeki durumları ile ilgilidir. Laktoperoksidaz katalizli ^3H burohidrat işaretleme yöntemleri ile işaretlenen sağlam hücre yüzeyleri daha sonra deterjanla çözünürleştirilerek sodyum dodesil sülfat poliakrilamid jel elektroforezine uygulandıkları zaman transforme hücre yüzeyi protein ve glikoproteinlerinde normallere göre bazı farklılıklar saptanmıştır(70).

Bu değişikliklerin en önemlisi transforme hücre yüzeyinde moleküler ağırlığı 220.000-250.000 olan bir glikoprotein bulunmamasıdır. Normal hücrede bulunan bu glikoproteine 250 K yüzey proteini, LETS Proteini, 1 komponent, 2 komponenti galaktoprotein a veya CSP isimleri verilmektedir. Bu glikoproteinin transforme hücrelerde bulunmamasının nedeni sentezinin bloke olması veya öldürücü olmayan sürekli proteoliz olduğu düşünülmektedir(71).

Benzer tekniklerle yapılan araştırmalar sonucunda normal fibroblastlarda bulunan 210.000 mol. ağırlığında bir yüzey antijeninin (SF antijeni) Rous sarkoma virusu ile enfekte hücrelerde olmadığı gözlenmiştir. Proteolitik enzimlere duyarlı olan bu antijenin 210.000, 145.000 ve 45.000 molekül ağırlığında üç polipeptidden oluştuğu ve ilginç olarakta 45.000 mol ağırlığındaki kısmın(SF 45) elektroforetik olarak saflaştırılmış fibroblast aktini ile beraber hareket ettiği gözlenmiş ve SF antijenin zar aktini ile bağlantılı olabileceği düşünülmüştür. Ayrıca normal ve tümör hücrelerinin yüzeylerinden proteolitik enzimler aracılığı ile uzaklaştırılan glikoproteinlerin sefadex jel kromatografisi ile transformasyona bağlı değişiklikler gözlenmiştir(71).

Transformasyon sonucu yüzey enzimlerinde genellikle yıkım enzimlerinde belirli değişiklikler gözlenmektedir(67)

4. ARAC GEREÇ ve YÖNTEMLER

4.1. ARAC ve GEREÇLER

4.1.1. KİMYASAL MADDELER

Petrol eteri(Merck),Dietileter(Merck),Etil alkol, kloroform(merck), Sodyum dihidrojen fosfat(Merck), Molibdik asit(Merck), Sülfürik asit(Merck), Lubrol(Sigma), Sodyum klorür(Sigma), EDTA(Sigma), Tris HCl(Sigma), Tris baz(Sigma), Sodyum hidroksid(Merck), Sodyum-potasyum tartarat(Sigma), Bakır sülfat(Merck), Folin ciocalteu, Bovine albumin(Sigma), Adenozin-5'-trifosfate(Sigma), Potasyum klorür(BDH), Magnezyum klorür(BDH), Kalsiyum klorür(Merck), MC konkey agar (Atabay),blood agar(Biomerieux), Müller Hinton Agar (Atabay), Sükroz(Difco).

4.1.2. CİHAZLAR ve DİĞER GEREÇLER

Blender(Arçelik), Santrifüj(Nüvefüj), Homojenizatör(Heidolph), UV spektrofotometresi(Shimadzu 260), pH metre (Beckman SSt), Benmari(Elektro-Mag), Otoklav(Trans medikal), Liyofilizasyon cihazı(Hetosicc).

4.1.3. ARASTIRMADA KULLANILAN DENEY HAYVANLARI

Araştırmada kullanılan deney hayvanları Mus musculus Balb/c türü (19-30 gram ve 2.5-3 aylık) erkek fareler olup Ç.U.Tıp Fakültesi Deneysel Cerrahi ve Araştırma Merkezinden (DECAM) temin edilmiştir. Deney hayvanlarının beslenmesinde hazır pelet yem kullanılmıştır.

4.1.4. AYIRACLARIN HAZIRLANMASI

4.1.4.1. Doku Homojenatlarının Hazırlanmasında Kullanılan

Homojenize Edici Çözeltiler:

0.3 M sukroz çözeltisi: Sukroz 102.69 gr

MgCl₂ 0.2 gr

H₂O 1 litre

4.1.4.2. Katı ve Sıvı Ascites Ehrlich Tümör Örneklerinin

Patolojik incelenmesinde Kullanılan Çözeltiler:

% 10'luk formaldehit çözeltisi kullanıldı.

4.1.4.3. Brassica Oleracea Var. Capitata Ekstresinin Antibakteriyel Etkisinin Araştırılmasında Kullanılan Besi Yerleri:

Mc Conkey Agar

58.25 gr Mc Conkey Agar

1 litre H₂O otoklavda steril edildi.

45°C ye getirilen vasat 8 cm'lik steril petri kutularına 15'er cc döküldü

Müller Hinton Agar

38 gram Müller Hinton Agar

1 litre H₂O otoklavda steril edildi.

45°C ye getirilen vasat 8 cm'lik steril petri kutularına 15'er cc döküldü

Blood Agar

40 gram Blood Agar

1 litre H₂O otoklavda steril edildi.

Bu şekilde hazırlanan besiyerine 45°C'ye geldikten sonra 60 ml steril defibrile insan kanı ilave edildi. 8 cm.lik petri kutularına 15'er cc döküldü

4.1.4.4. INORGANİK FOSFAT ÖLÇÜMÜNDE KULLANILAN AYIRAÇLAR

1. Cirrasol ALN-WX (Lubrol): % 5 konsantrasyonda 37°C de su banyosunda ısıtılarak hazırlanır ve 37°C su banyosunda muhafaza edilir. Bir ay dayanıklıdır.

2. Molibdik Asit: % 2 amonyum molibdatın 1.8 M sülfürik asitte çözülmesiyle hazırlanır. 4°C de uzun süre dayanır

3. Cirrasol Asit Molibdat Ayıracı:

% 5 Lubrol	10 ml
Molibdik Asit	25 ml
Distile su	65 ml

Oda sıcaklığında 8 saat, 4°C'de 24 saat dayanıklıdır.

4. Standart Fosfat: 27.8 mg potasyum dihidrojen fosfat distile suda çözülerek litreye tamamlanır. Eğri çizimi için 1/1 oranında sulandırılır(0.1 µM/ml). Bu standartın

icine % 0.1 lik kloroform katıldıktan sonra 0.01-0.02-0.04-0.06-0.08-0.1 $\mu\text{M}/\text{ml}$ olacak şekilde sulandırılarak, standart eğri çiziminde kullanılmıştır.

4.1.4.5. Adenozin 5 Trifosfataz Enzim Sisteminin Tayininde Kullanılan İnkübasyon Ortamının Hazırlanmasında Kullanılan Ayıraçlar:

1. 0.75 mM Kalsiyum klorür çözeltisi

Kalsiyum klorür 0.0275 gr

Saf su 250 ml karıştırıldı.

2. 30 mM Magnezyum klorür çözeltisi

Magnezyum klorür 1.52 gr

Saf su 250 ml karıştırıldı.

3. 25 mM potasyum klorür çözeltisi

Potasyum klorür 0.466 gr

4. 500 mM sodyum klorür çözeltisi

Sodyum klorür 7.305 gr

Saf su 250 ml karıştırıldı.

5. 2.5 mM EDTA Na_2 0.2326 gr

EDTA Na_2 0.2326 gr

Saf su 250 ml karıştırıldı.

6. 125 mM Tris pH= 7.4.....B1

Tris HCl 5.75 gr

Tris baz 1.66 gr

400 ml distile suda çözüldü.

7. 211 mM Tris pH= 7.4.....B2

Tris HCl 5.72 gr

Tris Baz 1.66 gr

980 ml saf suda çözüldü.

8. 306 mM Tris pH=7.4.....B3

Tris HCl 5.72 gr

Tris Baz 1.66 gr

980 ml saf suda çözüldü.

9. 202.9 mM Tris pH=7.4.....Bb

Tris HCl 5.72 gr

Tris Baz 1.66 gr

449.28 ml distile suda çözüldü.

10. 117.9 mM Tris pH=7.4.....Ba
Tris HCl 5.72 gr
Tris Baz 1.66 gr
370 ml distile suda çözüldü.
11. 287 mM Tris pH=7.4.....Bc
Tris HCl 5.72 gr
Tris Baz 1.66 gr
518 ml distile suda çözüldü
12. 75 mM ATP disodyum
ATP disodyum 0.4674 gr
Saf su 10 ml karıştırıldı.

4.1.4.6. Protein Tayininde Kullanılan Ayıraçlar:

A- % 2 Sodyum Karbonat (0.1 N sodyum hidroksitte).

B- 1. % 1 lik Bakır Sülfat

2. % 2 Sodyum Potasyum Tartarat

1 ve 2 numaralı solüsyonlar kullanılacağı zaman eşit hacimde karıştırılır.

C- 50 kısım A

1 kısım B

Kullanılacağı zaman taze olarak hazırlanır.

4.1.4.6.1. Folin Ciocelteau Ayıracı: 2000 ml lik bir balona 100 g soydum tungustat, 25 g sodyum molibdat, 700 ml distile su, 50 ml % 85'lik fosforik asit, 100 ml konsantre hidroklorik asit konarak 10 saat geri soğutucu altında kaynatılır. Karışım soğutulduktan sonra soğutucu çıkartılır. İçinde 50 g lityum sulfat, 50 ml distile su, 10 damla bromür çeker ocakta ilave edilir. Bu karışım 15 dakika brok kokusu gelmeyinceye kadar kaynatılır. Soğutulduktan sonra karışımın hacmi 1000 ml ye tamamlanır. Süzülür. Bu karışım kahverengi şişede buzdolabında uzun süre dayanır. Kullanılacağı zaman 1/1.5 oranında sulandırılarak kullanıldı.

4.1.4.6.2. Standart Albumin: (Bovin Serum Albumini) 15,30,45, 60,75,150 µg/ml lik konsantrasyonlarda değişik konsantrasyonlarda seyreltilerek hazırlandı. Standart eğri çiziminde kullanıldı.

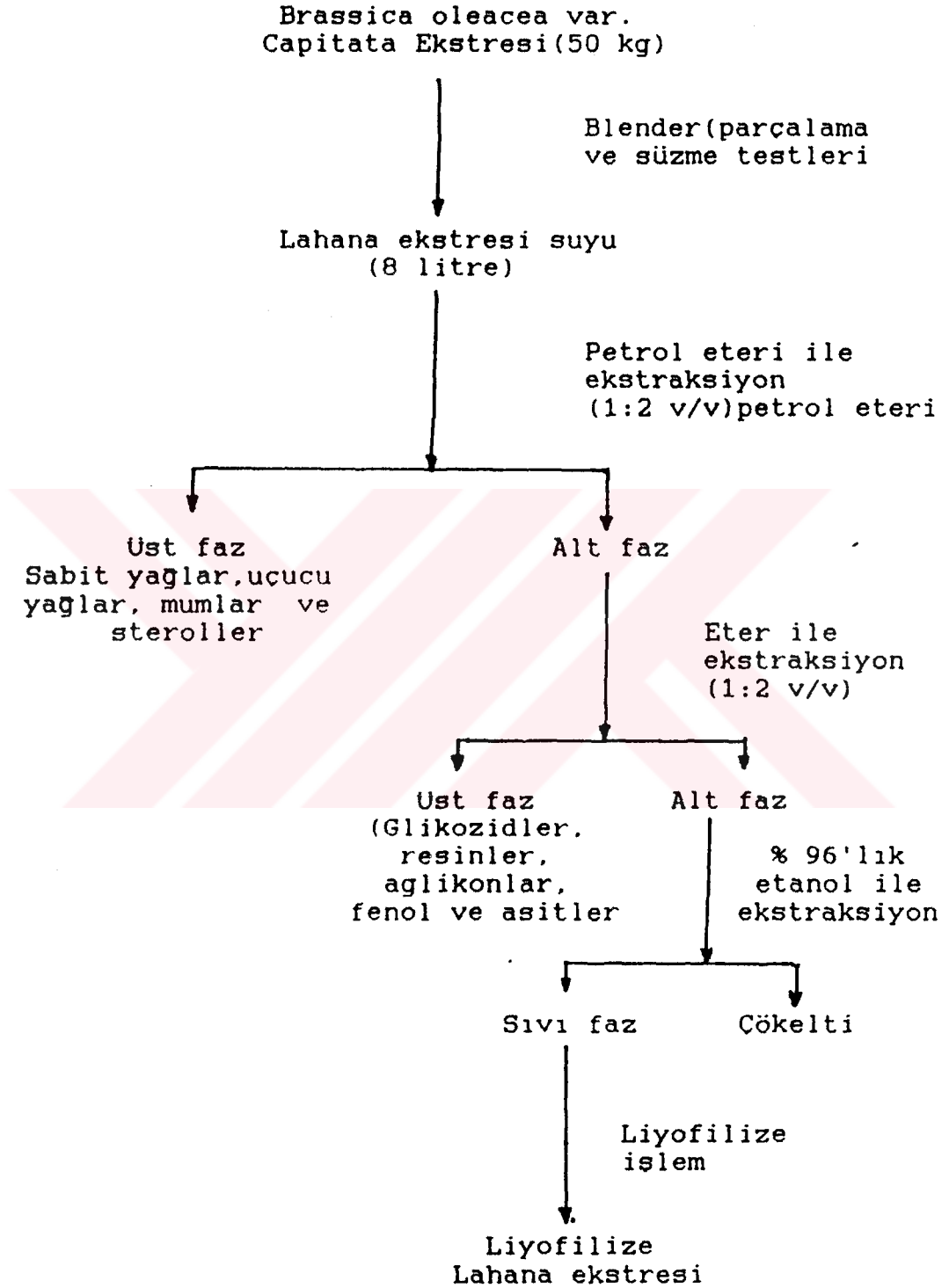
4.2. YÖNTEMLER

4.2.1. MUS MUSCULUS BALB/C TURU FARCLERDE EHRlich ASCITES TUMÖR(EAT) OLUSTURULMASI(72):

Çalışmamızda katı tümör oluşturulmasında İstanbul Ü. Tıp Fakültesi Deneysel Araştırma Merkezinden(DETAM) temin edilen peritonunda sıvı Ehrlich Ascites Tümör(EAT) sıvısı taşıyan stok fare(ağırlığı 24 gr: 2.5 aylık) kullanılmıştır. Bu farelerden alınan Ehrlich Ascites Tümör sıvısı Ç.Ü.Tıp Fak. Deneysel Araştırma Merkezinden(DECAM) temin edilen ağırlıkları 24-31 gr arasında değişen 2.5-3 aylık Mus musculus Balb/c farelerin peritonuna enjekte edilerek elde edilen periton sıvısı çalışmalarımızda kullanılmıştır. Bu sıvı ışık mikroskopunda her 10 büyütme sahasında ortalama 18 optik mitoz içeren hücresel pulasyon göstermektedir.

4.2.2. BRASSICA OLERACEA VAR.CAPITATA(Başlı Lahana) EKSTRESİNİN ELDESİ

Brassica Oleracea Var. Capita da(Başlı Lahana) anti kanserojen etki gösteren ekstraktın elde edilmesinde Gürkan, Köksal (1988)(11) ve Baytop(1984)(73) tarafından önerilen yöntem kullanılmıştır. 50 kg Brassica oleracea var. capitata yaprakları blenderde sıkıldıktan sonra dört katlı tülbentten süzülmesi ile elde edilen 8 litre süzüntü ayırma hunisinde petrol eteri(1:2 v/v) ile ekstre edildi. Uçucu ve sabit yağlar streoller mumlar içeren üst faz ayrı bir yerde toplandı. Alt faz ise eter (1.2 v/v) ile iki kere ekstre edildi. Glikozidler, rezinler, aglikonlar, fenoller, asitler içeren üst faz atıldı. Alt faz ise hacmin yarısı kadar etil alkol ilave edildikten sonra teşekkül eden çökelti atıldı. Şekerler, glikozidler, saponinler, alkoloidleri içeren süzüntü liyofilize edildi. Liyofilize Brassica oleracea var. Capitata ekstresi serum fizyolojik(% 0.9 NaCl) ile sulandırıldıktan sonra(0.5 mililitrede 20 mg) filtrasyon yöntemi ile sterilize edilmiştir(Sekil 6)



Sekil 6: Brassica Oleracea Var. Capitata Ekstresinin Eldesi

4.2.2.1. Brassica Oleracea Var. Capitata Ekstresinin Antibakteriyel Etkisinin Araştırılması:

Brassica oleracea var. capitata ekstresinin bakteriyel etkisini göstermek için Müller Hinton, Mc Konkey kanlı agar besiyerleri kullanılmıştır. Sözü geçen besiyerlerinin hazırlanmasın ayıraçların hazırlanması kısmında belirtilmiştir. Müller Hinton besiyerine otoklavdan çıkarıldıktan sonra lahanaya ekstartı, besiyerleri 45°C soğutulduktan sonra sıra ile 10 µgr, 50 µgr, 100 µgr, 200 µgr, 400 µgr, 500 µgr, 750 µgr, 900 µgr, 1000µgr konsantrasyonda karıştırıldı. Daha sonra elde edilen karışımlar 12 cm.lik steril petri kutularına dökülmüşlerdir.

Bakteri üretimi amacı ile Mc Konkey ve kanlı agar besiyerleri kullanıldı. Bakterilerin saf olarak çoğaltılması işlemi lahanaya ekstresi içermeyen Müller Hinton besiyerlerinde yapılmıştır. Bakteri konsantrasyonu serum fizyolojik içinde Mc Farlan 3'e göre ayarlandı. Bu şekilde hazırlanan bakteri 24 saat 37°C de bekletildikten sonra yukarıda belirtilen konsantrasyonlarda hazırlanan besiyerlerine 0.1 mililitre (Bu miktar tahmini Mc Farlan Hesabına göre 9.10^4 kolonidir) ekildi. Bu şekilde hazırlanan ortamlar 24 saat 37°C de bekletildikten sonra bakteri üremesi gözlenmiştir.

4.2.2.2. Brassica Oleracea Var. Copitata Ekstresinin Toksik Etkisinin Araştırılması:

Anti kanserasyon etki gösteren ekstrenin toksisitesini saptamak amacı ile 22 adet Mus musculus Balb/c türü farelere kg başına sıra ile 20 mg, 40 mg, 60 mg, 100 mg, 150 mg, 200 mg, 250 mg, 300 mg, 350 mg, 400 mg, 500 mg ekstre steril 0.5 mililitre serum fizyolojik içinde çözündükten sonra intraperitoneal olarak enjekte edildi. Aynı sayıda seçilen farelere ise yalnız steril 0.5 mililitre serum fizyolojik intraperitoneal olarak enjekte edilerek kontrol grubu olarak kullanıldı. Farelerde Brassica Oleocea var. capitata ekstresinin toksik etkisi 30 gün süre ile takip edilmiştir.

4.2.2.3. EHRlich ASCITES TUMÖRLERİN (EAT) TAKİP EDİLMESİ

Mus musculus Balb/c türü farelerde Ehrlich Ascites katı tümörlerinin büyüklükleri, en ve boyları kompass ile ölçülerek takip edilmiştir. Ayrıca deney hayvanlarının ağırlık değişimleri belli aralıklarla tartılarak saptanmıştır.

4.2.2.3.1. Ehrlich Ascites Tümörlerinin Patolojik İncelenmesi

Katı ve sıvı Ehrlich Ascites Tümörü oluşturulan farelerin otopsilerinde bütün organları ambulok çıkarıldıktan sonra makroskopik olarak tümörün deriye yada kasa olan invazyonlarını incelemek amacı ile bu bölgelerden de örnekler alınmıştır. Tüm örnekler bir tam gün % 10'luk Formaldehitte bekletilmiş, daha sonra değişik derişikliklerdeki alkoller ve ksilollerden geçirilerek 24 saat içerisinde tespit edilmiştir. Böylece parafin blokları hazırlanan doku örneklerinden 5-6 mikron kalınlığında doku kesitleri alınmıştır ve depa-rafinizasyon işlemi uygulanmıştır. Hemotoksilen eozin ile boyanan örnekler ksilolde şeffaflastırıldıktan sonra Nikon mikroskopta değerlendirilmiştir. Bazı doku örneklerine Van Gieson, Alcian Blue, Müsin, PAS gibi özel histokimyasal boyalar uygulanmıştır.

4.2.2.3.2. Tümörlerin Sitolojik Açıdan İncelemesi

Örnek sitosantrifüj aletinde santrifüj edildikten sonra Papanicalaou boyası ile boyandı ve incelendi.

Gerek Patolojik ve gerekse sitolojik değerlendirme Ç.U. Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı tarafından yapılmıştır.

**4.2.3. BRASSICA OLERACEA VAR. CAPITATA EKSTRESİNİN SIVI
VE KATI EAT ÜZERİNE OLAN ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

**4.2.3.1. Brassica Oleracea Var. Capitata Ekstresinin Sıvı EAT
Üzerine Etkisi:**

Bu amaç için *Mus musculus* Balb/c türü (23-31 gram) 2.5-3 aylık 15 adet erkek farelere 0.1 mililitre (ışık mikroskopunda her on büyüme sahasında ortalama 20 atipik mitoz hücre) Ehrlich Ascites Tümör (EAT) sıvısı intraperitoneal olarak enjekte edilmiştir. Deneyler üç grub çerçevesinde yürütülmüştür. Birinci grub farelere (21-30 gram) stok Ehrlich Ascites Tümör (EAT) sıvısı 0.1 mililitre intraperitoneal olarak enjekte edilmiştir. Deney grubunu oluşturan ikinci grub farelere 20 gün süre ile *Brassica oleracea* var. *capitata* ekstresi (0.5 mililitre 20 miligram) intraperitoneal olarak enjekte edilmiştir. Üçüncü grub kontrol farelere ise 0.5 mililitre steril serum fizyolojik intraperitoneal olarak enjekte edilmiştir. Üç grub farelerin bu süre içerisinde ağırlık değişimleri her gün takip edildi.

**4.2.3.2. BRASSICA OLERACEA VAR. CAPITATA EKSTRESİNİN KATI
EHRlich ASCITES TÜMÖR (EAT) ÜZERİNE ETKİSİ**

Mus musculus Balb/c türü farelerin dorsal bölgesine 0.1 mililitre (ışık mikroskopunda her on büyüme sahasında ortalama 18 atipik mitoz hücre) Ehrlich Ascites Tümör (EAT) sıvısı enjekte edilerek oluşturulan katı EAT'e *Brassica Oleracea* Var. *Capitata* ekstresinin etkisi patolojik ve tümör ebatlarının değişimi yönünde araştırılmıştır.

Bu amaç için katı tümör oluşturulan *Mus musculus* Balb/c türü (21-30) 2.5-3 aylık erkek farelere 20 gün süre ile 0.5 mililitre (20 mg) *Brassica oleracea* var. *capitata* ekstresi intraperitoneal olarak enjekte edilmiştir. Kontrol grubu olarak seçilen farelere *Brassica oleracea* var. *capitata* ekstresi yerine aynı süre steril 0.5 mililitre steril serum fizyolojik intraperitoneal olarak enjekte edilmiştir.

Tümör büyüklükleri belli aralıklara göre tümör oluşması yönünden takip edilmiştir. Farelerin tümör boyutları kompas ile, ağırlıkları ise tartılarak saptanmıştır.

4.2.3.3. Brassica Oleracea Var. Capitata'nın Tümör Oluşumunu Engelleyici Etkisi.

Bu amaç için 20 adet Mus musculus Balb/c türü erkek farelere 20 gün süre ile 0.5 ml (20 mg) Brassica oleracea var. capitata ekstresi intraperitoneal olarak enjekte edildi. Kontrol grubu farelere ise bu süre içinde 0.5 mililitre steril serum fizyolojik intraperitoneal olarak enjekte edildi. 15 gün sonra gerek deney grubu gerekse kontrol grubu farelere 0.1 mililitre (ışık mikroskopunda her on büyütme sahasında ortalama 18 atipik mitoz hücre) Ehrlich Ascites Tümör (AET) sıvısı intraperitoneal olarak enjekte edildi. 20 gün süre ile sıvı EAT oluşması yönünden incelenmiştir.

4.3. ADENOZİN 5' TRİFOSFATAZ ENZİM SİSTEMİ SPESİFİK AKTİVİTELERİNİN ÖLÇÜLMESİNDE KULLANILAN DOKU HEMOJENATLARININ HAZIRLANMASI:

Mus musculus Balb/c türü erkek farelerde oluşturulan katı Ehrlich Ascites tümörleri % 10 konsantrasyonluk porsiyonlar halinde 0.40 mm olan teflon pistonlar yardımı ile 100 xg de homojenize edilmişlerdir. Homojenizasyon işlemleri soğukta yapılmıştır. Tümör homojenatlar 1000 xg de 15 dakika santrifüj edilerek içerdikleri kirlilikler ortamdan uzaklaştırılmıştır. Elde edilen berrak süzüntü Adenozin-5'-Trifosfataz (ATPaz) enzim sistemlerine ait spesifik aktivite ölçülmesinde kullanılmıştır.

4.3.1. ADENOZİN TRİFOSFATAZ ENZİM AKTİVİTESİNİN ÖLÇÜMÜ

Adenozin trifosfataz aktivitesi inkübasyon sırasında ortama eklenen 3 mM disodyum (ATP) varlığında her mg protein için bir saatte açığa çıkan inorganik fosfatın ölçülmesi prensibine dayanmaktadır (64,65).

B.71 İNORGANİK FOSFAT ÖLÇÜMÜ

İlke= Inkübasyon ortamına eklenen Adenozin Trifosfat (ATP) den açığa çıkan inorganik fosfat ölçümü Atkinson tarafından önerilen yöntemle göre yapılmıştır (74). Yöntem, ATP'den

ayrılan inorganik fosfatın Cirrasol ALN-WF (Lubrol) ve fosfo molibdat ile kompleks kurması ilkesine dayanmaktadır.

İşlem= Buzda bekletilen ve içeriği 2.5 ml olan tüplere 5 ml Cirrosol-Asit molibdik ayırıcı eklendikten 10 dakika bekletildikten sonra ayırıcı körüne karşı spektrofotometrede 390 nm dalga boyunda ölçülerek elde edilen absorban değerleri kullanılır.

Değerlendirile= Standart eğri için her ml'sinde 0.2-1.2 $\mu\text{mol KH}_2\text{PO}_4$ içeren orto fosfat standartları hazırlandı örnekler fosfat içerikleri ölçülerek değerlendirildi. Sonuçların değerlendirilmesinde örneklerin 390 nm dalga boyunda göstermiş oldukları absorban değerleri kullanılarak çizilen kalibrasyon grafikleri kullanılmıştır.

4.3.2. ADENOSİN 5'TRİFOSFATAZ ENZİM SİSTEMİ TAYİNİNDE KULLANILAN İNKUBASYON KOŞULLARI

İnkübasyon ortamı Reading ve İsbir tarafından önerilen koşullara dayanılarak hazırlanmıştır. İnkübasyon karışımını içeren örnek ve çözeltiler 37°C de 30 dakika inkübe edilmiştir. ATPaz aktivitesi 3 değişik şekilde ölçülmüştür (64,65).

1. Sodyum-Potasyum tarafından uyarılan ve aktivasyon için magnezyuma gereksinim duyan adenozin 5'trifosfataz aktivitesi ($\text{Na}^+\text{K}^+/\text{Mg}^{+2}$ ATPaz).

2. Kalsiyum tarafından uyarılan ve magnezyuma gereksinim duyan adenozin trifosfataz aktivitesi ($\text{Ca}^{+2}/\text{Mg}^{+2}$ ATPaz).

3. Yalnız magnezyum tarafından uyarılan adenozin trifosfataz aktivitesi ($\text{Mg}^{+2}/\text{ATPaz}$).

Örneklerde adenozin trifosfataz aktivitelerinin ölçümünde kullanılan iyonların ve tampon sistemlerinin miktarları tablo 2 de özetlenmiştir.

Tablo 2: ATPaz Tayininde Kullanılan Inkübasyon Koşulları

Stok ayıraçlar	ölçülen ATPaz Aktivitesi		
	Na,K ve Mg	Mg	Ca
	Her tüpte bulunan son konsantrasyonlar		
469 mM NaCl	100 mM	-	-
25 mM KCl	5 mM	-	-
30 mM MgCl ₂	5 mM	6 mM	6 mM
0.75 mM CaCl ₂	-	-	0.5 mM
250 mM EDTA	0.1 Mm	0.1 mM	0.1 mM
125 Mm Tris HCl B ₁	30 mM	-	-
211 mM Tris HCl B ₂	-	135 mM	-
306.5 mM Tris HCl B ₃	-	-	135.85 mM
117.9 mM Tris HCl B ₄	33 mM	-	-
202.9 mM Tris HCl B ₅	-	138 mM	-
287.0 mM Tris HCl B ₆	-	-	137.85 mM
75 mM ATP	3 mM	3 mM	3 mM
Total iyonik kuvvet	144.1 mM	144 mM	144 mM

ATP ve EDTA'nın disodyum tuzları kullanıldığından her ikisinin sodyum iyon dağılımı 6 mM olup, total dağılım ise 6.2 mM'dir. Stok sodyum iyonunun konsantrasyonu 469 mM olduğuna göre son konsantrasyon $0.5/2.5 \times 465 = 93.8$ mM olur. Bu konsantrasyonda ATP ve EDTA'dan gelen sodyum konsantrasyonları eklenirse toplam sodyum konsantrasyonu 100 mM olur.

Tablo 3) ATPaz Tayini İçin Kullanılan Tamponların ve İyonların Miktarları

Her tüpe elave edilen iyon ve tamponların miktarları (ml)													
	Na ₊	K ₊	Mg ₊	Ca ₊	EDTA	B ₁	B ₂	B ₃	B _a	B _b	B _c	ATP	Num.
Na ₊ /Mg ₊ ATP az	0.5	0.5	0.5	-	0.1	0.6	-	-	-	-	-	0.1	0.2
Mg ₊ ATP az	-	-	0.5	-	0.1	-	1.6	-	-	-	-	0.1	0.2
Ca ₊ Mg ₊ ATP az	-	-	0.5	0.5	0.1	-	-	1.1	-	-	-	0.1	0.2
Na ₊ K ₊ /Mg ₊ ATP az Kör	0.5	0.5	0.5	-	0.1	-	-	-	0.7	-	-	-	0.2
Mg ₊ ATP az Kör	-	-	0.5	-	0.1	0.6	-	-	-	1.7	-	-	0.2
Ca ₊ /Mg ₊ ATP az Kör	-	-	0.5	0.5	0.1	-	-	-	-	-	1.2	-	0.2
Na ₊ K ₊ /Mg ₊ ATP az ATP körü	0.5	0.5	0.5	-	0.1	-	-	-	-	-	-	0.1	0.2 Kaynamıs
Mg ₊ ATP az ATP körü	-	-	0.5	-	0.1	-	1.6	-	-	-	-	0.1	0.2 Kaynamıs
Na ₊ /Mg ₊ ATP az ATP körü	-	-	0.5	0.5	0.1	0.1	-	-	1.1	-	-	0.1	0.2 Kaynamıs

Tüpler 2.5 ml ye distile su ile tamamlanmıştır.

4.4. PROTEİN TAYİNİ

İlke: Örneklerin içerdiği total miktarlar Lowry ve arkadaşlarının geliştirdikleri yöntemle göre saptanmıştır(74).

İşlem: 0.3 ml örnek üzerine A çözeltisinden eklendi ve bu tüpler 15 dakika oda ısısında bekletildi. 0.3 mililitre arık su kullanılarak aynı işlem kör tüpü içinde uygulandı. Karışıma 0.3 mililitre çözelti B çözeltisinden eklendi ve absorban değerleri 30 dakika sonra 750 nm dalga boyunda okunmuştur.

Değerlendirme: Örneklerin içerdiği protein miktarları standart çözeltilerin gösterdikleri absorban değerleri ile karşılaştırılarak saptandı.

Standart eğri çizimi için 5 ml içerisinde 125 mg Albumin içeren çözeltiden 0.1-0.5 ml fraksiyonlar alınarak her 0.5 ml çözeltiye yukarıdaki işlemler uygulanarak standart eğri çizilmiştir.

Adenozin-5'-Trifosfataz(ATPaz) enzim sistemine ait sonuçları nMol Pi/Mg protein/saat cinsinden ifade edilmiştir.

5. BULGULAR

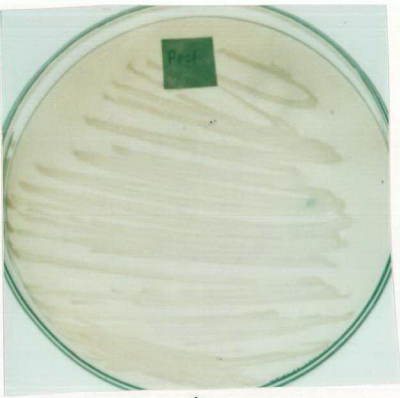
5.1. Brassica oleracea var. capitata ekstresinin antibakteriyel ve toksik özelliklerinin araştırılması:

50 kg. Brassica oleracea var. capitata'dan elde edilen yaklaşık 8 litre ekstraksiyon ürününün antibakteriyel ve toksik özellikleri araştırılmıştır.

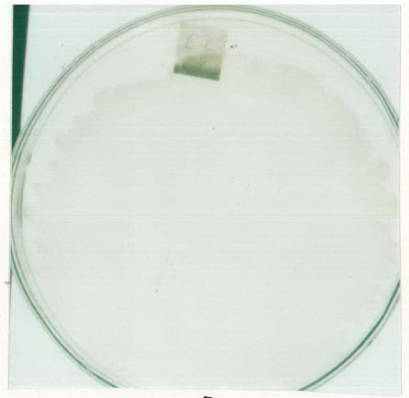
4.1.1. Brassica oleracea var. capitata ekstresinin antibakteriyel etkisi: Brassica oleracea var. capitata ekstresi içeren Müller Hinton besiyeri ortamında Proteus mirabilis, E.coli, Pseudomonas aeroginaosa Stophylococcus aureus, Klebsiella, Enterobacter bakterileri üremiştir (Resim 1; A,B, C,D,E ve F).

5.1.2. Brassica oleracea var. capitata ekstresinin toksik etkisi.

Brassica oleracea var. capitata ekstresinin toksik etkisinin araştırılması amacı ile Mus-musculus Balb/c türü farelere kilogram başına 20,40,100,150,200,250,300,350,400, 450 ve 500 miligram dozlarında ekstre 0.5 mililitre serum fizyolojik içerisinde intraperitoneal olarak verilmiştir. Farelerin ağırlık değişimleri belirli aralıklarla 30 gün süre ile takip edilmiştir. Kontrol grubu deney hayvanlarına ise 0.5 mililitre serum fizyolojik intraperitoneal olarak verilerek ağırlık değişimleri gözlenmiştir (Tablo 4).



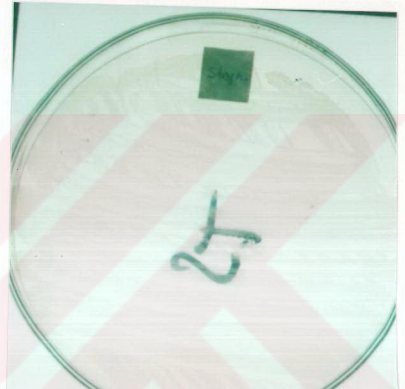
A



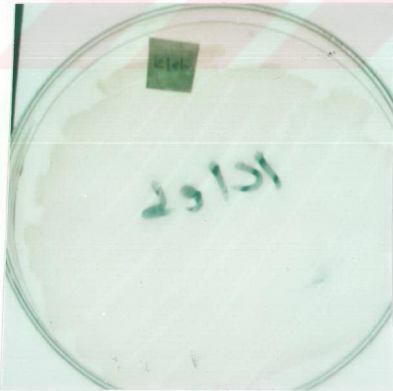
B



C



D



E



F

Resim 1: *Brassica oleracea* var. *capitata* ekstresi içeren Müller Hinton besiyerine bakterilerin etkisi. A: *Proteus mirabilis*. B: *E.coli*. C: *Pseudomonas aeruginosa*. D: *Staphylococcus aureus*. E: *Klebsiella*. F: *Enterobacter*

Tablo 4: Degisik dozlarda Brassica Oleracea var. capitata ekstesinin etkisi ile Mus-musculus Balb/c türü farelerde gözlenen ağırlık degişimleri

Deney No.	Uygulanan Doz mg/0.5 ml Serum Fizyolojik (ugr)	Deney Grubu		Kontro Grubu	
		Baslangıç Ağırlığı (gr)	30 gün sonraki Ağırlığı (gr)	Baslangıç Ağırlığı (gr)	30 gün sonraki Ağırlığı (gr)
1	20	25.75	29.75	24.50	28.75
2	40	25.97	29.05	28.05	31.55
3	100	24.62	28.45	23.10	27.45
4	150	27.22	30.40	26.50	30.65
5	200	30.77	33.90	27.15	32.30
6	250	28.07	30.15	24.90	29.40
7	300	24.67	28.35	27.75	31.10
8	350	25.27	30.57	28.05	31.45
9	400	24.72	28.60	26.25	30.90
10	450	25.25	28.50	26.50	31.70
11	500	22.55	27.40	28.25	32.70

Not: Tablodaki sonuçlar iki deneyin ortalamasıdır.

Tablo 4'ün incelenmesinde görüleceği gibi deney ve kontrol grubu arasında değişik ekstre dozlarına bağlı önemli bir ağırlık değişimi görülmediği gibi 30 gün süre ile her iki gruba ait fareler normal yaşamlarına devam etmişlerdir. Bu bulgumuza dayanarak ekstrenin 20-500 miligram/mililitre konsantrasyonları arasında değişen değerlerin herhangi bir toksik etki göstermediği kanısına varılmıştır

5.2. Sıvı Ehrlich Ascites Tümörü Olusturulması: Mus-musculus Balb/c türü farelerde 0.1, 0.2, 0.3 mililitre konsantrasyonlarında Ehrlich Ascites Tümör (EAT) çözeltisi intraperitoneal (IP) olarak enjekte edilmiştir (Resim 2).



(A)



(B)

Resim 2: *Mus musculus* Balb/c türü farelerde oluşturulan

Ehrlich Ascites Tümörlerin görünümü

A) Sıvı Ehrlich Ascites Tümör

B) Kontrol Grubu Fare

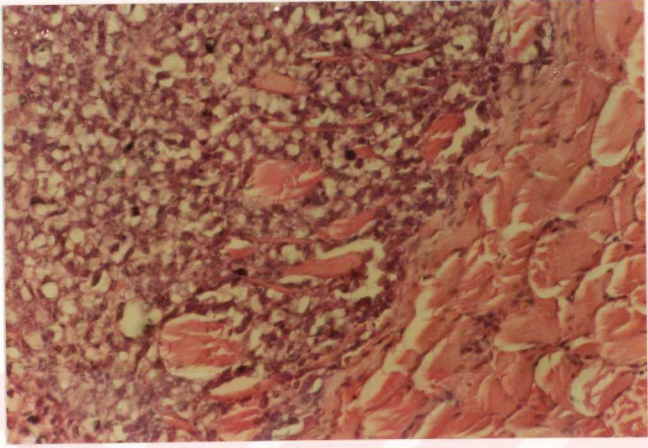
Değişik konsantrasyonlarda sıvı Ehrlich Ascites Tümör (EAT) çözeltisinin fare peritonundan boşaltıldıktan sonra yaşam süreleri Tablo 6'da verilmiştir.

Tablo 6: Sıvı EAT çözeltisinin Fare peritonundan boşaltıldıktan sonraki süreleri

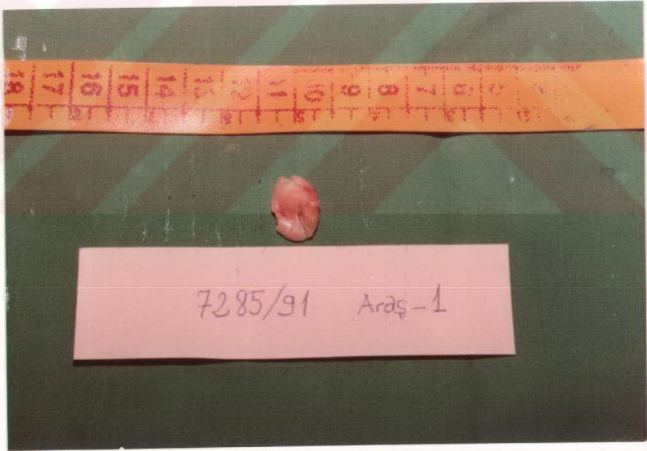
Intraperitoneal olarak verilen sıvı EAT çözeltisinin konsantrasyonu(ml)	Yaşam Süresi (gün)
0.1	15-28
0.2	14-18
0.3	9-14

5.2.2. Katı(Solid) Ehrlich Ascites Tümör Oluşturulması:

Katı tümör oluşturmak üzere 25 adet mus.musculus Balb/c türü farelerin dorsal bölgesine 0.1 mililitre (ışık mikroskopunda her on büyütme sahasında ortalama 18 atipik mitoz hücre) Ehrlich Ascites çözeltisi enjekte edilmiştir. Yedi gün sonra 13 farede katı tümör oluşumunun başladığı gözlenmiştir. Katı tümör boyutları 37 gün belirli aralıklarla takip edilmiştir. Bu süre içerisinde deney grubu farelerin tümör büyüklükleri ölçülmüştür(Tablo 7). Oluşturulan solid tümörlerden hazırlanan örneklerin ışık mikroskop düzeyinde incelenmesi sonucu çizgili kasa ve yumuşak dokulara invazyon yapan malign tümörleri resmi Resim 3 'de gösterilmiştir.



(A)



(B)

Resim 3: A) Çizgili kas dokusu içerisinde katı tumorün infiltrasyonu görülmektedir.
Mikroskopik büyütme HEx750.

B) Farenin dorsal bölgesinden çıkarılan tumor dokusu

Tablo 7: Mus-musculus balb/c türü farelerde oluşturulan katı tümörlerin boyutları

Deney No.	Başlangıç tümör büyüklüğü en x boy x yükseklik x cm ³	37 gün sonraki tümör büyüklüğü en x boy x yükseklik x cm ³
1	0.44 x 0.59 x 0.48	1.90 x 2.10 x 1.75
2	0.40 x 0.52 x 0.42	1.40 x 1.20 x 1.30
3	0.60 x 0.50 x 0.40	2.20 x 1.20 x 1.70
4	0.52 x 0.60 x 0.58	2.64 x 1.95 x 1.54
5	0.60 x 0.70 x 0.40	1.90 x 1.40 x 1.20
6	0.40 x 0.50 x 0.38	1.94 x 1.90 x 1.50
7	0.70 x 0.80 x 0.60	2.30 x 2.40 x 1.36
8	0.40 x 0.70 x 0.50	1.74 x 1.50 x 1.40
9	0.30 x 0.40 x 0.34	1.70 x 1.90 x 1.20
10	0.60 x 0.70 x 0.40	2.50 x 1.40 x 1.45
11	0.60 x 0.48 x 0.52	2.10 x 2.40 x 1.90
12	0.54 x 0.50 x 0.42	1.96 x 1.40 x 1.20
13	0.50 x 0.40 x 0.34	1.90 x 2.60 x 1.40
x ± SD	0.508 - 0.568 - 0.445 ±0.114 ±0.125 ±0.085	2.014 - 1.796 - 1.454 ±0.335 ±0.482 ±0.221

Tablodaki x± standart sapma olarak verilmiştir. Gruplar önemlilik kontrolü "t" testi kullanılarak yapılmıştır

Tablo 7'nin incelenmesinde görüleceği gibi başlangıç tümör büyüklükleri 13 deney hayvanına ortalama 0.508 x 0.568 x 0.445 bulunmuştur. 37 gün sonra tümör büyüklüklerinde istatistiki açıdan anlamlı bir artış gözlenmiştir (2.014 x 1.796 x 1.454) (p< 0.01).

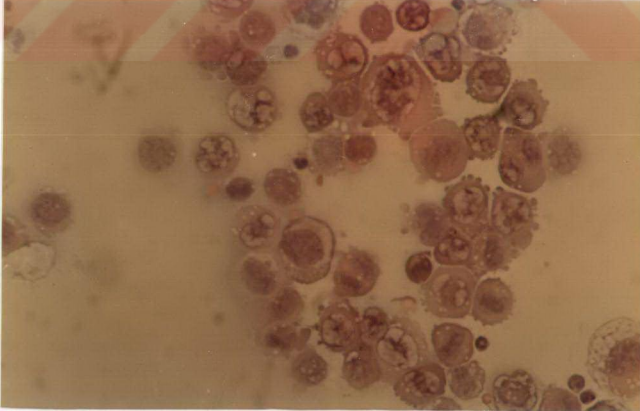
Katı tümör oluşumunun başladığı yedinci gün ile 37 nci gün arasında farelerde ağırlık artışı istatistiksel açıdan anlamlı bulunmuştur (0.001<p<0.1) (Tablo 8).

Tablo 8: Mus-musculus Balb/c türü farelerde ağırlık artışıları

Deney No.	DENEY GRUBU		KONTROL GRUBU	
	Başlangıç Ağırlık (gr)	37.gün Ağırlık (gr)	Başlangıç Ağırlık (gr)	37.gün Ağırlık (gr)
1	30.59	35.00	28.40	33.50
2	30.00	35.00	26.40	30.20
3	23.60	27.40	30.50	36.40
4	23.30	27.60	24.50	29.20
5	27.12	30.90	24.20	29.10
6	25.10	28.80	23.50	28.00
7	25.10	29.60	23.40	29.40
8	22.20	26.60	27.10	31.40
9	23.15	28.00	29.30	34.20
10	30.85	34.70	23.40	27.50
11	30.20	34.40	29.20	33.10
12	26.10	31.50	24.00	29.00
13	28.40	32.00	26.00	30.40
x ± SD	26.593±3.135	30.908±3.165	26.164±2.541	30.108±3.336

Tablodaki x ± standart sapma olarak verilmiştir. Gruplar önemlilik kontrolü "t" testi kullanılarak yapılmıştır

Bu gruba ait farelerin peritoneal sıvısının patolojik incelemesinde bol miktarda Sıvı Ehrlich Ascites Tümör (EAT) hücresine rastlanmıştır(Patolojik incelemeler Ç.U. Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı tarafından yapılmıştır)(Resim 4).



Resim(4): Sıvı Ehrlich Ascites Tümör(EAT) çözeltisinin sito santrifüj ile elde edilen Malign tümör hücreleri (Mikroskopik büyüme HE x 750).

Ehrlich Ascites Tümör (EAT) sıvılarının sito santrifüj edildikten sonra değerlendirilmesi ile her bir EAT çözeltisinde atipik mitoz sayısı Tablo 9'da gösterilmiştir.

Tablo 9: Ehrlich Ascites Tümör Sıvısında A Tipik Mitoz Hücre Sayısı

Örnek Sayısı	Her on büyütme sahasında ışık mikroskobu ile a tipik mitoz hücresi
1	23
2	14
3	21
4	14
5	22
6	15
Ortalama sayı	18.3

5.2.2.1 Brassica oleracea var. capitata ekstresinin sıvı Ehrlich Ascites Tümörü oluşumunu koruyucu etkisi:

Bu amaç için Mus-musculus Balb/c türü farelerinde 20 gün süre ile her gün 20 mg 0.5 mililitre serum fizyolojik içinde Brassica oleracea var. capitata ekstresi intraperitoneal olarak verilmiştir. Bu süre sonunda 0.1 mililitre (ışık mikroskobunda her on büyütme sahasında ortalama 18 adet atipik mitoz hücre) Ehrlich Ascites çözeltisi farelerin peritonuna tatbik edildi. Ayrıca kontrol grubunu teşkil eden farelere ise 0.5 mililitre steril serum fizyolojik periton içine 20 gün süre ile verilmiştir. 20 gün sonra 0.1 ml Ehrlich Ascites çözeltisi intraperitoneal olarak uygulanmıştır. Ekstre verilen ve verilmeyen deney ve kontrol grubu fareler 20 gün süre ile gözlenmiştir.

20 günlük lahana ekstresi kürüne alınan farelerde % 72'sinde sıvı Ehrlich Ascites Tümörü oluşmamıştır. Bu fareler 20 gün süre ile takip edilmiştir. Bu süre içerisinde lahana



(A)



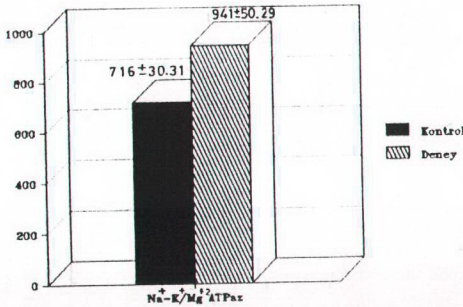
(B)

Resim 6 : A- Ehrlich Ascites Tümörü Oluşturulan Fare.
B- Lahana ekstresi tatbik edilen fare.

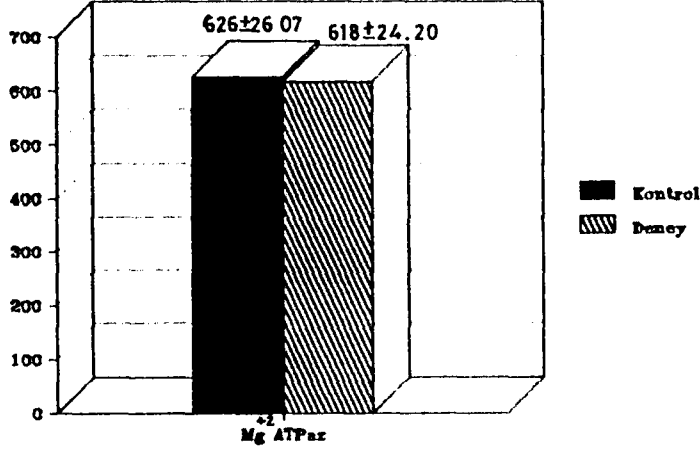
5.3 Invivo koşullarda Brassica Oleracea var.Capitata ekstresinin Mus-Musculus Balb/c türü farelerde Adenosin 5' Trifosfataz Enzim Sistemi Uzerine Etkisi:

Kontrol grubu farelere ait tümör dokusunda sodyum, potasyum tarafından uyarılan ve aktivasyon için magnezyuma gereksinim duyan Adenozim 5' Trifosfataz enzimi ($\text{Na}^+ - \text{K}^+ / \text{Mg}^{+2}$ ATPaz), Magnezyum tarafından uyarılan Adenozin 5' Trifosfataz enzimi (Mg^{+2} ATPaz) ve Kalsiyum tarafından uyarılan ve aktivasyon için magnezyuma gereksinim duyan Adenozin 5' Trifosfataz enzimlerinin ($\text{Ca}^{+2} / \text{Mg}^{+2}$ ATPaz) ortalama değerleri sırasıyla 716 ± 30.31 , 626 ± 26.078 , 625.923 ± 23.45 nmol Pi/mg protein/saat olarak saptanmıştır. 20 gün süre Brassica oleracea var.capitata ekstresi kürüne alınmış deney grubu farelere ait tümörlerde $\text{Na}^+ - \text{K}^+ / \text{Mg}^{+2}$ ATPaz, Mg^{+2} ve $\text{Ca}^{+2} / \text{Mg}^{+2}$ ATPaz enzimlerinin ortalama değerleri sırasıyla 941.667 ± 50.299 , 618.33 ± 24.209 , 574.167 ± 31.223 nmol Pi/mg protein/saat olarak saptanmıştır. Na-K/Mg ATPaz enzime ait lahana ekstresi etkisine bağlı spesifik aktivite yükselişleri istatistiki açıdan önemli olduğu gözlenmiştir ($p < 0.001$).

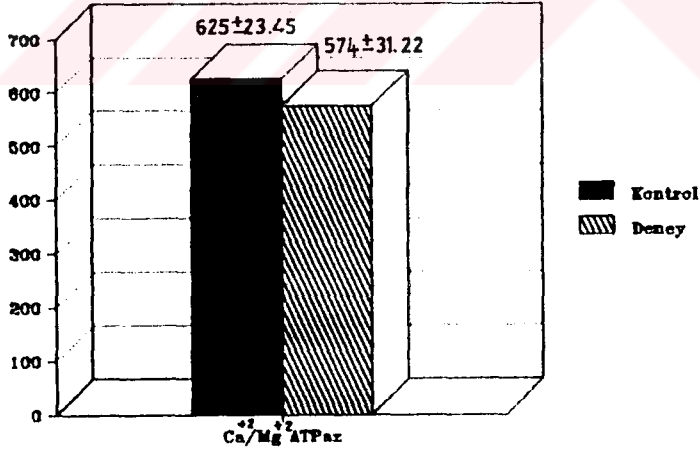
Lahana ekstresine bağlı olarak Mg ATPaz enzime ait istatistiki açıdan önemli bir değişiklik saptanmamıştır ($p > 0.05$). $\text{Ca}^{+2} / \text{Mg}^{+2}$ ATPaz enzime ait lahana ekstresine bağlı spesifik enzim aktivitesi istatistiki açıdan önemli bir düşüş göstermiştir ($p < 0.01$) (Şekil 7,8 ve 9).



Şekil 7: Kontrol ve invivo koşullarda lahana ekstresine bağlı $\text{Na}^+ / \text{K}^+ / \text{Mg}^{+2}$ ATPaz enzime ait spesifik aktivite değerleri. (Şekildeki değerler ortalama değer ± standart sapma olarak verilmiştir. n=Deney sayısı; Grup ortalamaları arasındaki farkın önem kontrolü "Student t" testi ile incelenmiştir.



Sekil 8: Kontrol ve invivo koşullarda lahana ekstresine bağlı Mg^{+2} ATPaz enzimine ait spesifik aktivite değerleri. (Sekildeki değerler ortalama değer ± standart sapma olarak verilmiştir. n=deney sayısı; grup ortalamaları arasındaki farkın önem kontrolü "student t" testi ile incelenmiştir)



Sekil 9 : Kontrol ve invivo koşullarda lahana ekstresine bağlı Ca^{+2}/Mg^{+2} ATPaz enzimine ait spesifik aktivite değerleri sekildeki değerler ortalama değer ± standart sapma olarak verilmiştir. n=deney sayısı; grup ortalamaları arasındaki farkın önem kontrolü "student t" testi ile incelenmiştir

6. TARTISMA

Son senelerde lahana, karnıbahar, Brüksek Lahanası gibi Cruciferae bitkilerinin içeriklerinin karsinogenesisi etkilediğini bildiren raporlar dikkati çekmektedir(1,2). Yapılan araştırmalar sonucu söz konusu sebzelerin tüketilmesi ile çeşitli kanser türlerinin insidansının azalması arasında bir bağlantı olabileceği görüşünü kuvvetlendirmektedir(4,19) Bu bitkilerden elde edilen etken maddelerin çeşitli deney hayvanlarında karsinogenesisi inhibe ettiği rapor edilmiştir (1,2). Gürkan ve arkadaşları yaptıkları araştırmalar sonucu Brassica oleracea var. Capitata ve var.acephala yapraklarında sitolik etki gösteren alkaloidal karakterde bir maddenin varlığı kesinlik kazanmıştır(76). Ayrıca Cruciferae bitkilerinin antitümoral, antibakteriyal(14,15) ve guatrojenik etkileri (17,18) rapor edilmiştir.

Bu çalışmamızda ise Brassica oleracea var. Capitata'dan elde edilen ekstrenin Mus-musculus Balb/c türü farelerde oluşturulan katı ve sıvı Ehrlich ascites tümörüne (EAT) olan in-vivo etkisi araştırılmıştır.

Ascites tümör terimi ilk defa 1927 yılında Hesse tarafından kullanılmıştır(77). Araştırmacı çeşitli deney hayvanlarının peritoneal kavitesinde oluşturduğu tümör sıvısının deney hayvanlarına transplante edildiği zaman biyolojik özelliğini kaybetmediğini göstermiştir. Bundan sonra Jonh ve Koch(1932)de Hesserin gözlemlerini doğrular düzeyde çalışmalar yapmışlardır(77). Yapılan araştırmalar sonucu bazı genel Ascites Tümörleri tablo 11'de gösterilmiştir.

Tablo 11 : Önemli Ascites Tümörleri

Tanıma	Tipi	Bulunduğu Tarih	Kaynağı	Hayvan türü
6 C3 HED	Ind.Lenfo Sarkoma	1941	Timus	C3H Fare
DBA(Lenfoma)(Dalton)	Sp.Ca	1947	Timus	DBA Fare
I.5178	Lenfoma	1952	Timus	DBAz Fare
Ehrlich	Sp.Ca	1896	Memeli bezi	Bütün farelerde
15091 a	Sp.Ca	1928	Memeli bezi	Bütün farelerde
Krebs	Sp.Ca ?	1933	-	Bütün farelerde
TA3	Sp.Ad.Ca	1948	Memeli bezi	Bütün farelerde
MCIA	Ind.Rabdomyosarkoma	1945	Kas	C3H fare
MCIM	Ind.Sarkoma	1946	Kas	C3H fare
Lenfoma EI.4	Ind.Lenfoma	1945	-	C57BL
Yoshida	Ind.Sarkoma	1947	Scrotom	Sıçan
MTR Sarkoma II	Ind.Sarkoma	1951	-	Wistar sıçanı
Takeda Sarkoma	Sp.Sarkoma	1952	-	Sıçan
Watonobe	Ind.Hepatoma	1954	-	Sıçan

Sp:Spontaneous; Ind:Induced; Ca: Carcinoma; Ad.Ca: Adreno carcinoma.

Çalışmamızın ilk aşamasında Mus-musculus Balb/c türü farelerde sıvı ve katı Ehrlich Ascites Tümörü(EAT) oluşturulması amaçlanmıştır. Bu amaç için İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi tecrübi araştırma merkezinden(DETAM) temin edilen 25 gram ağırlığında ve peritonunda sıvı Ehrlich Ascites Tümörü taşıyan erkek fare kaynak olarak kullanılmıştır. Bu farelerden elde edilen Ehrlich Ascites tümör sıvısı 0.1, 0.2 ve 0.3 mililitre konsantrasyonlarında erkek farelerin peritonuna enjekte edilmiştir. Ehrlich Ascites Tümör sıvısının sito-santrifüj edildikten sonra ışık mikroskopunda her on büyütme sahasında atipik mitoz hücresi ortalama 18.3 olarak saptanmıştır. Peritonuna 0.1 mililitre Ehrlich Ascites Tümör sıvısı enjekte edilen farelerin en fazla 16 gün yaşadığı gözlenmiştir. Ayrıca Ehrlich Ascites tümör sıvısının miktarının

artırıldığı durumlarda(0.3 ml) 9 gün yaşadığı saptanmıştır.

Ancak farelerin peritonundan Ehrlich Ascites tümör sıvısı bosaltıldığı zaman farelerin yaşam süreleri 14.28 gün arasında uzadığı gözlenmiştir.

Koch ve arkadaşları maksimum solid tümör büyüklüğüne 30-35 günde ulaşabileceğini rapor etmişlerdir(77).

Katı tümör oluşturulan 25 adet mus-musculus Balb/c türü farelerde başlangıçta 0.508 ± 0.114 , 0.568 ± 0.125 , 0.445 ± 0.085 cm³ olarak saptanmıştır. Tümör büyümesinde bu artış istatistiksel açıdan anlamlı olduğu gözlenmiştir ($p < 0.001$).

Çalışmamızdan elde edilen bulgulara göre oluşturmayı planladığımız tümör modelinin özelliklerinin literatürde verilen model ile uyum içerisinde olduğu saptanmıştır.

Çalışmamızın ikinci kademesinde ise Brassica oleracea var. Capitata'dan petrol eteri, eter ve etil alkol ekstraksiyonu ile antitümoral etkiye sahip ekstre elde edilmiştir. Bu ekstrenin toksik ve bazı bakterilere karşı antibakteriyel etkileri araştırılmıştır. Elde ettiğimiz ekstre Proteus mirabilis, E.coli, Pseudomonas aeruginosa, staphylococcus aureus, enterobakter, Klebsiella bakterilerine etkili olmadığı gözlenmiştir. Şengün ve ark. beyaz lahananın E.coliye karşı antibakteriyel etkili, Klebsiella pneumoniae ve staphylococcus aureus üzerine etkisiz olduğunu doku kültürlerinde yetiştirilen sıçan embriyofibroblastlarında yuvarlaklaşma, yer yer küçük balonların oluşması gibi morfolojik değişikliklere sebep olduğunu göstermişlerdir(14)

Ancak yapılan literatür çalışmasında görüldüğü gibi farklı lahanaların antibakteriyel etkilerinin farklı olduğu gözlenmiştir. Çalışmamızdaki farklı bulgu lahananın farklı türünden veya kullanılan suşların farklı olmasından ileri gelebileceği izlenimini uyandırmıştır.

Lahana ekstresinin toksik etkisini araştırmak amacı ile 20-500 µgr/ml arasında değişen konsantrasyonundaki ekstre farelere enjekte edilmiştir. Fareler 30 gün süre ile gerek

ağırlıkları, gerekse fiziksel özellikleri gözlenmiştir. Bu süre içinde fareler normal yaşamlarına devam etmiştir, ağırlıklarında bir azalma gözlenmemiştir. Bu süre içerisinde farelerin depresyona girmediği, derilerinde ve tüylerinde bir döküntü gözlenmediği gibi davranışlarında da bir değişiklik saptanmamıştır.

Literatürde Cruciferae bitkilerinin diğer biyolojik aktiviteleri ile ilgili çalışmalar 1922 yılından itibaren rapor edilmiştir. Lahana suyunun gastrik sekresyonu arttırdığı (12), kan şekeri seviyesini düşürdüğü(13), gastrojenik bir ajan olduğu da bildirilmiştir. Mor lahana ekstresinin kontrakturan etkili olduğu da rapor edilmiştir(24). Bu arada kara lahana ekstresi ile yapılan bir başka çalışmada ise tavşanlarda kan şekeri düzeyini etkilemediği gösterilmiştir. Ayrıca insanlarda pişirilmiş Brüksel lahanası ile beslenmenin plazma T_3 ve T_4 düzeylerinin etkilenmediği McMillan ve ark.(79) tarafından gösterilmiştir.

Yukarda kısaca özetlenen çalışmalar bulgularımız arasında yer alan lahana ekstresinin toksik etkisi olmadığı görüşümüzü desteklemektedir. Bu ekstrenin toksik olmaması yönünden de kanserde ve etkili olduğu hastalıklarda bir ilaç ham maddesi olarak değerlendirilebileceği görüşündeyiz.

Çeşitli lahana türlerinin antikanserojen etkileri değişik araştırmacılar tarafından araştırılmıştır. Bu çalışmalara göre lahana ekstresi diyetine alınan farelerde, tümör oluşumunu engellediği ve mevcut tümörlerin küçüldüğü rapor edilmiştir(3,4,5).

Brassica oleracea var. *capitata* ekstresinin sıvı Ehrlich Ascites tümörünün oluşumuna karşı koruyucu hemde engelleyici bir etki gösterdiği saptanmıştır. Ekstrenin sıvı Ehrlich Ascites tümörünü koruyucu etkisinin araştırılmasında *Mus-musculus* Balb/c türü farelere 20 mg/0.5 mililitre içerisinde lahana ekstresi verilmiştir. Farelerde oluşturulan sıvı Ehrlich Ascites Tümörünün lahana ekstresinin etkisi ile %72'sinde sıvı Ehrlich Ascites Tümörü oluşmadığı gözlenmiş-

tir. Bu grub içerisinde yer alan farelerin % 28'inde sıvı Ehrlich Ascites Tümörünün olduğu gözlenmiştir.

Lahana ekstresi uygulanmasına rağmen sıvı Ehrlich Ascites tümörü oluşan farelerin 14 gün yaşadığı gözlenmiştir. Lahana ekstresi verilmeyen Ehrlich Ascites tümörü oluşturulan kontrol grubu farelerin ortalama 11 günde öldükleri saptanmıştır.

Brassica Oleracea Var. Capitata ekstresinin Mus-musculus Balb/c türü farelere sıvı Ehrlich Ascites Tümör oluşumunu engelleyip engellemediğini göstermek amacı ile 0.1 mililitre (ışık mikroskopunda her on büyütme sahasında ortalama 18 adet atipik hücre) sıvı Ehrlich Ascites Tümörü verildikten sonra 20 mg/0.5 mililitre serum fizyolojik içinde verilen Brassica oleracea var. capitata ekstresinin etkisi ile 15 fareden 13 tanesinde sıvı Ehrlich Ascites Tümörü oluşmadığı gözlenmiştir. Lahana ekstresi verilmesine rağmen sıvı Ehrlich Ascites tümörü oluşan farelerden alınan periton sıvı örneği sitolojik olarak incelenmesi sonucu ışık mikroskopunun her on büyütme sahasında 5 adet atipik mitoz hücrelerine rastlanmıştır. Sıvı Ehrlich Ascites tümörü oluşturulmak üzere farelerin peritonuna verilen sıvıda ortalama 18 adet atipik mitoz hücresi bulunduğu göz önüne alınırsa lahananın ekstresinin tümör oluşumu üzerine engelleyici etkisinin mevcut olduğunu göstermektedir.

Brassica oleracea var. capitata ekstresinin katı EAT (Ehrlich Ascites Tümör) oluşumu üzerine etkisinin araştırılmasında dorsal bölgelerinde katı tümör oluşturulan 27 adet Mus-musculus Balb/c türü farelere 20 gün süre ile ekstre tatbikinden sonra % 44'ünde tümör boyutları küçülmüş ($p < 0.001$) % 25'inde tümör tamamen kaybolmuş, % 31'inin ise Brassica oleracea var. capitata ekstresinden etkilenmediği, tümör boyutlarının büyüdüğü saptanmıştır.

Çalışmalar sonucu elde ettiğimiz bulgularımız literatür ile uyum içindedir.

Yaptığımız literatür araştırmasında Crucifera

bitkilerinin antitümoral etkisinin glukosinolat ve türevlerinden kaynaklanabileceğini gösteren kuvvetli deliller mevcuttur(23). Ancak Tiendink ve arkadaşları antikanserojen etkinin glukosinolatlar yanında nitroso türevlerinden de (indol-3 asetonitril, indol 3 karbinol ve triptofan nitrit) kaynaklanabileceği görüşünü ileri sürmüşlerdir Çalışmamızda Brassica oleracea var capitata ekstresinin yapısının aydınlatılması yönünde gidilmediğinden bu konu tartışma dışı bırakılmıştır.

Çalışmamızda invivo koşullarda Brassica oleracea var. Capitata ekstresinin etkisiyle Sodyum potasyum tarafından uyarılan ve aktivasyon için magnezyuma gereksinim duyan Adenosin 5' Trifosfataz enziminin($Na^+ - K^+ / Mg^{2+}$ ATPaz) spesifik aktivitesi % 30 oranında bir yükseliş göstermiştir. Enzimin spesifik aktivitesindeki bu artış istatistiksel açıdan önemli olduğu saptanmıştır ($p < 0.001$).

Magnezyum tarafından uyarılan Adenosin 5' trifosfataz (Mg^{2+} ATPaz)enziminin spesifik aktivitesinde bir değişiklik saptanmamıştır ($p > 0.05$).

Kalsiyum tarafından uyarılan ve aktivasyon için magnezyuma gerek duyan Adenosin 5'trifosfataz enziminin(Ca^{+2} / Mg^{+2} ATPaz) spesifik atktivitesinde % 10 oranında bir azalış saptanmıştır($p < 0.001$).

Değişik tümörlerde ve transforme hücrelerde zar fosfolipid ve glikolipid yapılarında genel değişiklikler meydana geldiği çeşitli araştırmacılar tarafından rapor edilmiştir(80). Birçok insan malign tümöründe kolesterol ve fosfoglisericid düzeyleri normal dokuya ve benign lezyonlara göre daha yüksek olduğu rapor edilmiştir. Adenosin 5'trifosfataz enzim aktivitesi ile fosfolipid düzeyleri ile arasında sıkı bir bağlantı olduğu düşüncesinde hareket edildiği zaman $Na^+ - K^+ / Mg^{2+}$ ATPaz ve Ca^{+2} / Mg^{+2} ATPaz enzim sistemindeki aktivite artışlarının fosfolipid düzeyleri artışı ile bağlantılı olabileceği savı ileri sürülebilir. Ancak yaptığımız literatür çalışmalarında katı tümör Adenosin-5'-Trifosfataz

(ATPaz) enzimlerinin Brassica oleracea var. capitata ekstresine bağlı değisimlerini açıklayan bir çalışmaya rastlanmadığından bulgularımızın literatürdeki yeri saptanamamıştır.

Sonuç olarak diyebiliriz ki:

1. Brassica oleracea var. Capitata ekstresinin Mus-musculus Balb/c türü farelerde oluşturulan sıvı Ehrlich Ascites Tümörlerine karşı koruyucu ve tümör oluşumunu engelleyici etkisi olduğu sonucu elde edilmifitir.

2. Brassica oleracea var. capitata ekstresinin Mus-musculus Balb/c türü farelerde oluşturulan katı Ehrlich Ascites Tümörlerini küçültücü ve tümörü yok edici etkisinin olduğu gözlenmifitir.

3. Brassica oleracea var. capitata ekstresinin Mus-musculus Balb/c türü farelerde oluşturulan katı tümör dokusunda sodyum-potasyum tarafından uyarılan ve aktivasyon için magnezyuma gerek duyan Adenosin 5'Trifosfataz enziminde (Na^+ , K^+ / Mg^{+2} ATPaz) % 32 oranında bir artışa, kalsiyum tarafından uyarılan ve aktivasyon için magnezyuma gereksinim duyan Adenozin 5' Trifosfataz (Mg^{+2} ATPaz) enziminde % 8 oranında bir azalışa sebep olduğu saptanmıştır.

Çalışmamızdan elde edilen sonuçlara göre mus-musculus Balb/c türü farelerde oluşturulan sıvı ve katı Ehrlich Ascites Tümörlerine Brassica Oleracea var capitata ekstresinin etkisi ile tedavi edilebileceği izlenimi elde edilmifitir. Ancak Brassica oleracea var. Capitata ekstresindeki aktif maddenin tanımının ve bu maddenin direkt olarak Adenosin 5' Trifosfataz enzim sistemine etkisinin incelenmesinin konuya açıklık kazandıracadığı inancındayız.

7. ÖZET

Brassica oleracea var. *capitata* yapraklarının petrol eteri, eter, etil alkol ekstraksiyonu ile elde edilen ekstrenin antitümoral etkisi *in vivo* olarak *Mus-musculus* Balb/c farelerinde oluşturulan katı ve sıvı Ehrlich ascites tümörüne (EAT) etkisi gösterildi. Farelerde oluşturulan katı Ehrlich Ascites Tümörlerin(EAT) 27 adet hayvanın 25 günlük 20 mg ekstre/0.5 mililitre serum fizyolojik (SF) ile intraperitoneal olarak tedaviden sonra % 25'inin tamamen iyileştiği, %44'ünde tümörün küçüldüğü, % 4'ünde tümörün büyüdüğü, kontrol grubu 13 adet farenin hepsinde tümörün geliştiği görüldü.

Brassica oleracea var. *capitata* ekstresinin *Mus-musculus* Balb/c türü farelerde oluşturulan sıvı Ehrlich Ascites tümörlerini koruyucu etkisinin araştırılmasında 20 günlük 20 mg ekstre/0.5 mililitre serum fizyolojik ile intraperitoneal olarak tedaviden sonra % 72'sinde sıvı Ehrlich ascites tümörü oluşmadığı, % 28'inde sıvı Ehrlich Ascites tümörü olduğu gözlemlendi. *Brassica oleracea* var. *capitata* ekstresi verilmeyen Ehrlich ascites tümörü oluşturulan farelerin hepsinin ortalama 11 günde öldüğü gözlemlendi.

Brassica oleracea var. *capitata* ekstresinin *Mus-musculus* Balb/c türü farelerde oluşturulan sıvı Ehrlich ascites tümörlerini engelleyici etkisinin araştırılmasında 20 günlük 20 mg ekstre/0.5 mililitre serum fizyolojik ile intraperitoneal olarak tedaviden sonra 15 fareden 13 tanesinde Ehrlich Ascites Tümörü oluşmadığı gözlemlendi. Kontrol grubu farelerin hepsinin öldüğü gözlemlendi.

Mus-musculus Balb/c türü farelere kilogram başına 20 mg-500 mg *Brassica oleracea* var. *Capitata* ekstresi (0.5 mililitre serum fizyolojik içinde) intraperitoneal olarak verildiğinde toksik etkisi olmadığı gözlemlendi.

Brassica oleracea var. *capitata* ekstresinin Müller Hinton Besiyeri ortamında *proteus mirabilis*, *E.coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *staphylococcus aureus*, *Klebsiella*,

Enterobacter bakterilerine karşı antibakteriyel etkisi olmadığı görüldü.

Kontrol grubu farelere ait tümör dokusunda sodyum, potasyum tarafından uyarılan ve aktivasyon için magnezyuma gereksinim duyan Adenozin 5'Trifosfataz enzimi ($\text{Na}^+ - \text{K}^+ / \text{Mg}^{+2}$ ATPaz), Magnezyum tarafından uyarılan Adenosin 5' Trifosfataz (Mg^{+2} ATPaz) enzimi, Kalsiyum tarafından uyarılan ve aktivasyon içeren magnezyuma gereksinim duyan Adenozin 5' Trifosfataz ($\text{Ca}^{+2} / \text{Mg}^{+2}$ ATPaz) enzimlerinin ortalama değerleri sırası ile 716 ± 36.31 , 626 ± 26.078 , 625.923 ± 23.45 nmol Pi/mg/protein/saat olarak saptanmıştır 20 gün süre ile Brassica oleracea var. Capitata ekstresi intraperitoneal olarak verildikten sonra $\text{Na}^+ - \text{K}^+ / \text{Mg}^{+2}$ ATPaz, Mg^{+2} ATPaz ve $\text{Ca}^{+2} / \text{Mg}^{+2}$ ATPaz enzimlerinin mortalama değerleri sırası ile 941.667 ± 50.299 , 618.33 ± 24.205 , 574.167 ± 31.223 nmol Pi/mg protein/saat olarak saptanmıştır.

8. KAYNAKLAR

1. Graham S. Results of case-control studies of diet and cancer in Buffalo. *Cancer Res. New York* 1983, Suppl:43,p: 2409.
2. Graham S, Dayal H, Swanson M, Mittelman A, Wilkinson G: Diet in the epidemiology of cancer of the colon and rectum, *J. Natn. Cancer Inst.* 61: 709-12, 1978.
3. Boyd JN, Babish JG, Stoewsand GS: Modification by beet and Cabbage of aflatoxin B₁-induced rat plasma α -fetoprotein elevation, hepatic tumorigenesis and mutagenicity of Urine, *Food. Chem. Toxic.* 20: 47-50, 1982.
4. Stoewsand GS, Babish JB, Wimbrelly HC: Inhibition of hepatic toxicities from polybrominated biphenyls and aflatoxin B₁ rats fed cauliflower, *Jm. Environ. Path. Toxic.* 2: 395-404, 1978.
5. Wattenberg LW, Loub WD: Inhibition of polycyclic aromatic hydrocarbon induced neoplasia by naturally occurring Indoles, *Cancer Res.* 38: 1410-1414, 1978.
6. National Research Council: Diet Nutrition and cancer. National Academy Press. Washington DC. 1982, p:11.
7. Eisner G: The lifesaving action of portions of plants and the juices removed from them in the case of otherwise fatal subacute uranium intoxication, *Biochem* 2;(232):218-221, 1931.
8. Whitty JP, Bjeldanes LF: The effects of dietary Cabbage on xenobiotic metabolizing enzymes and the binding of aflatoxin B₁ to hepatic DNA in rats, *Food Chem. Toxicol.* 25: 581-87, 1987.
9. Dewick PM: Tumour inhibitors from plants in "Trease and Evans" *Pharmacognosy*. Evans W.C (Ed). 13 th. Edition. Baillere Tindol, p:637-43, London 1989.
10. Willfort R: *Gesundheit Durch Heil krante*. Rudolph Trauner. Verlof. Linz. Austria 1959.
11. Gürkan E, Köksal G: The cytotoxic effect of two Brassica species, *Fitoterapia* LIX, 47-48, 1988.

12. Bykoff KM: Influence of cabbage juice ingested with different kinds of food upon the secretory function of the gastric glands, *Physiologia Abst.* 8: 366-70, 1922.

13. Dubin HE, Corbitt HB: Hypogluccemia producing substances, *Chim Abs.* 22.825, p: 1, 653, 452, 1928.

14. Şengün A, Çevikbaş A, Özalpan, Gürkan E: Brassica deraced (Beyaz Lahana'nın doku kültüründe yetiştirilen hücreler ve bakteriler üzerine tesiri. IV. Bilim Kongresi.5-8 Kasım 1973, Ankara, p:1-4.

15. Sherman JM, Hodge HM: The bactericidal properties of certain plant juices, *J.Bact.* 31: 96-99, 1936.

16. Webster B, Marine D, Cipra A: The occurrence of reazonal variations in the goiter of rabbits produced by feeding cabbage, *J. Exp.Med.* 53-58, 1931.

17. Langer P: Antithyroid action in rats of small doses of some naturally occurring compounds, *Endocrinology.* 79: 1117-20, 1966.

18. Van Etten CH, Daxenbichler ME, Williams DH: Glucosinolates and derived products in cruciferous vegetables, analysis of the edible part from twenty two varieties of cabbage, *J.Agric,fd.Chem* 24: 452-53, 1976.

19. Morita K: Studies on naturel desmutogenem: Sceening for vegetable and fruit factors active in activation of mutagence pyrolysis products for amino acids, *Agric. Biol.Chem.*42: 1235-39, 1978.

20. Oesch F: Significance of various enzymes in the control of mutagenic and carcinogenic metabolites derived from aromatic structures, *Toxical,Path.* 12: 391-95, 1984.

21. Bailey GS, Hendricks JD, Shelton DW, Nixon JE, Pawlowski NE: Enhancement of carcinogenesis by the naturel anticarcinogen indol. 3.Carbinol, *J.Natl.Cancer Inst.* 78: 931-34, 1987.

22. Wattenberg LW, Hanley AB, Barenly G, Sparnins WL, Lom LK, Fenwick GR: Inhibition of carcinogenesis by some minor dietary canstituents, *Int.Symp.Princess Takamatsu Cancer Res.Fund.*16, 1985.

23. Tiedink HG, Hissink AM, Lodema SM, Van Broekhoven LW, Jongen WM: Several known indole compounds are not important precursors of direct mutagenic N-nitroso compounds in green cabbage Mutat. Res. 232: 199-207, 1990.

24. Altinkurt O: Brassica oleracea var. capitata'nın farmakolojik etkileri. Türk Hijyen ve Tec. Biol. Derg. 31: 153, 1971.

25. Gensler LH, and Bernestein H: DNA damage as the primary cause of agins, Q-Rev. Biol. 56: 279-303, 1981.

26. Maher MY and McCormick JJ: Role of DNA lesions and repair in the transformatikon of human cell, Pharmacol. Ther. 25: 395-408, 1984.

27. Lawson T, Stohs S: Changes in endogenous DNA damage in aging mice in response to butylated hydroxyanisole and oltipraz, Mech. Ageing. Det. 179-85, 1985.

28. Jernstrom B, Guenther MT, Hesse S, Orrenus S: Formation and inactivation of DNA binding metabolites of benzo (a) pyrene studied with isolated cells and subcellular fractions in Carcinogenesis_ Fundoamental Mechanisms antd Environmental Effects, Pullman B, Iso POP, and Gelboin H(Eds). Rejdell. Highom. M.A. p: 151-165, 1980.

29. Orrenius and Tones PD: Functions of glutathione in drug metabolism. In Functions of Glutathione in Liver and Kidney. Sies H, and Wendell A.(eds) Springer Verlag. p: 164-175, 1978.

30., Stohs JS, Lawson T, and Al.Türk AW: Changes in glutathione and glutathione metabolizing enzymes in erythrocytes and lymphocytes of mice as a function of age, Gen. Pharmacol. 15: 267-70, 1984.

31. Stohs IS, Al.Türk AW, and Heinicke IR: Glutathione S-transferase in liver, lung and intestinal mucosa of aging female mice, Gen Pharmacol. 13: 519, 1982.

32. Wattenberg L: Inhibition of chemical carcinogens by minor dietary components. In Moleculer Interrelations of Nutrition and cancer. M.S. Arnott J, Van Eysand YM, Wong(ed). Rawen Press NY. p: 43-56, 1982.

33. Wattenberg LW: Chemoprevention of cancer. Res. 45: 1-8, 1985.

34. Harman D, and Eddy ED: Free radical theory of aging: Beneficial effect of adding antioxidants to the maternal mouse diet on lifespan of offspring: possible explanation of the sex difference in longevity Age 2, 109-122, 1979.

35. Kahn RR: Effect of antioxidants on lifespan of C 57 BL mice, J.Gerontol. 26: 378-80, 1971.

36. Stohs SJ, Lawson TA, Anderson L, Bueding E: Effect of oltipraz, BHA, ADT and Cabbage on glutathione metabolism, DNA damage and lipid peroxidation in old mice, Mech Ageing Dev. 37: 137-145, 1986.

37. Bradfield CA, Chong Y, Bjeldanes LF: Effects of commonly consumed vegetables on hepatic xenobiotic metabolizing enzymes in the mouse, Fd. Chem.Toxic. 23: 899-905, 1985.

38. Spornins YL, Venegas PL, Wattenberg LW: Glutathione S-transferase activity enhancement by compounds inhibiting chemical carcinogenesis and by dietary constituents. I.Natn. Cancer Inst. 66: 769-973, 1982.

39. Nugon-Baudon L, Rabot S, Saylit O, Raiboud P: Glucosinolate toxicity in growing rats. Interactions with the hepatic detoxification system. xenobiotica. 20: 223-30, 1990.

40. Panter KE, James LF: Natural plant toxicals in milk areviens, I.Anim.Sci.68: 892-904, 1990.

41. Boggards II, Van Ommen B, Falke HE, Williams MI, Van Bladeren PI: Glutathione S-transferase subunit induction patterns of Brussels Sprouts Isothiocyanate and goitrin in rat liver and small intestinal mucosa: a new approach for the identification of inducing xenobiotics. Food.Chem.Toxicol.28: 81-85, 1990.

42. Salbe AD, Bjeldanes LF: The effect of dietary Brussels sprouts and schizandra chinensis on the xenobiotic metabolizing enzymes of the rat small intestine, Food Chem. Toxicol. 23: 57-65, 1985.

43. Barranco SC, Townsend CM, Jr, Neintroub B, Bcasley EG, Mclean KK, Shaeffer J, Lin NH, Schellenberg K: Changes in glutathione content and resistance to anticancer agents in human stomach cancer cells induced by treatments with melphalon in vitro. *Cancer Res.* 50: 3618, 1990.

44. Miller KW, Stoewsand GS: Hepatic polysubstrate monooxygenase activities in different strains of rats fed cabbage. *Drug. Chem. Toxicol* 6: 93-110, 1983.

45. Mclean EM, Driseor H, Mc Donell R: Nutrition and enzyme inducers in liver tumor promotion in human and rat, *Bull. Cancer(Paris)* 77: 505-509, 1990.

46. Mc Donell R, Mclean AE, Honley AB, Haeney RK, Fenwick GR: The effect of feeding Brassica vegetables and intact glukosinolates on mixed-function oxidase(MFo) activity in the livers and intestines of rats, *Food Chem Toxicol.* 27: 289-93, 1989

47. Singer SJ, Nicholson GL: The fluid Mosaic Model of the Structure of membranes, *Science*, 41: 666, 1972.

48. Finean JB, Coleman C, Michell RH: Membranes and their Cellular Functions, London 1978, 2 nd Ed. p: 1-145.

49. Lehninger AL: Membran structure Biochemistry. Worth Publishes Inc.p:279-301, New York, 1975.

50. Schwartz A, Lindenmayer GB, Allen J: The Sodium Potassium Adenosine Triphosphate, Pharmacological and Biochemical Aspects, *Pharmacol Rew.* 1975; 27:134.

51. Bretscher MS: Membrane Structure: Some General Principles *Science.* 181: 622, 1973.

52. Korn ED, Structure of Biological Membranes. *Science*, 153: 1491, 1966.

53. Kotyk A, Janacek K: Energy Dependent kmin Biological Membranes. *Studia Biophysica*, 81: 27, 1980.

54. Blostein MR: Relationships Between Erythrocyte Membrane Phosphorilation and Adenosine Triphosphate Hydrolysis. *J.Biol.Chem.* 243:8,1957-1965, 1968.

55. Brank JR: The Relationship of Membrane Adenosine Triphosphatase to Transport Process. *Biochem Soc.Spec.Publ.* 4: 18,1974.

56. Hoffman J: The Red cell Membrane and the Transport of Sodium and Potassium. *American J Med*, 41: 666, 1966.
57. Skou JC: Enzymatic Basis for Active Transport of Na^+ and K^+ Across cell Membrane. *Physiol Rew*, 45: 596, 1965.
58. Skou JC: Further Investigations on a Mg^{+2} , Na^+ Activated Adenosine Triphosphatase. Possibly Related to the Active Linked Transport of the Na^+ , K^+ across the Membrane. *Biochim. Biophys Acta*, 42: 23, 1960.
59. Skou JC: The Enzymatic Basis for the Active Transport of Sodium and Potassium. *Protopl*, 63: 303, 1967.
60. Skou JC: The Relationship of the ($\text{Na}^+\text{-K}^+$) Activated Enzyme System to Transport of Sodium and Potassium Across Cell Membrane. *Bioenergy*, 4: 30, 1972.
61. Chalan M: Molecular properties of sodium channels in Excitable Membranes. *Cell Sur Neu Func*: 47, 1980.
62. Harrison R, Lunt GG: *Biological Membranes: Their Structure and Function*. Thomson Lithe Ltd East Kilbride 1980.
63. Gayton A: *Textbook of Medical Physiology*. WB Saunders Comp. London, p:1-6, 1976.
64. Reading HW, Isbir T: Action of Lithium on ATPase in Transmitter Release from rat Iris. *Biochem Pharmacol*, 28: 3471, 1979.
65. Reading HW, Isbir T: The role of Cation-Activated ATPases in Transmitter Release from rat Iris. *Quart J Exper Phys*, 65: 105, 1980.
66. Whittan R, Ager ME: The Connexion Between Active-Cation Transport and Metabolism in Erythrocytes. *Biochem J*, 97: 214, 1965.
67. Becher FF: *Cancer*. New York and London 1982. 2nd Ed. 1:1-692.
68. Count Recasas P: Interaction of wheat Germ Agglutinin and Concanavalin A with Isolated-Fat cells. *Biochemistry*, 12: 1312, 1972.
69. Postr G, Reeve P: Increased Mobility and Redistribution of Concanavalin A Receptors on Cells Infected with Newcastle Virus. *Nature*, 247: 465, 1974.

70. Gahmberg CG, Kiehn P, Hakamor S: Changes in a surface-labelled galaktoprotein and glycolipid concentrations in cell transformed by a temperature-sensivite polyama virus mutant. Nature, 248: 413, 1974.

71. Robbins PW: Comparisons of Major Cell Surface Proteins of Normal and Transformed Cells. Am J Clin Pathol. 63:671, 1975.

72: Sengün A, Baykut F, Kayahan E, Berkada B, Öz F, Ulakoglu G, Ceyhan Y, Cevikbaş A, Çotuk A, Kazancıgil A: Preliminary report on the effect of grapefruit (citrus paradise) extract on ehrlich ascites (EAT) Cells. Chimia Acta. Turcica 9, 255-528, 1981.

73. Baytop T: Türkiye'de Bitkilerle Tedavi Istanbul Universitesi Yayını 3255. Eczacılık Fakültesi Yayını 40, Istanbul 1984.

74. Atkinson A, Gotenby AD, Lowe AG: The determination of inorganik ortophosphate inbiological systems. Biochim. Biophys Acta 1973; 320: 195.

75. Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL: Protein Measurement with the Folin Phenol Reagent.

76. Gürkan E, Küçük Cezzar R. Brassica Oleracea Var. Capitata'nın Sitolitik Etkisi ve bu etkinin biyolojik önemi. CNAM 12.209.s: 1-16, Istanbul 1982.

77. Paul J: Ascites Tumours. Cell and Tissue Culture. New York, 1975, 5th Ed, p: 318-321.

78. Kuşcu I, Can A: Action of two drugs from folk medicine on bloodsugar Lever. Acta Pharm 26; 46-48, 1984.

79. McMillan, Spinks EA, Fenwick: Preliminary observatiks on the effect of dietary Brussels sprouts on thyroid function. Hum.Toxical. 5, 15-19, 1986.

80. NerG, Giuliano MC, Hixon DC, Walburg EF: The role of cell, surface sialic Acid in Lectin-induced Agglutination of Navikoff Hepatoma Cells. Membranes and Disease, Raver Press New York, p: 163-171, 1976.