



T.C.
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİY-YL-2007-0002

FARKLI YÖNTEMLERLE ELDE EDİLMİŞ SARIMSAK
(*Allium sativum* L.) EKSTRAKTLARININ
ANTİMUTAGENİK ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

HAZIRLAYAN: Mehmet Hakan SERMENLİ

DANIŞMAN: Yrd. Doç. Dr. Tülay AŞKIN ÇELİK

AYDIN – 2006

ÖZ

Denemede farklı yöntemlerle elde edilen sarımsak ekstraktların Hidrojen Peroksid'in (H_2O_2) oluşturduğu mutagenik etkiye karşı, antimutagenik etkinliği araştırılmıştır. Bu amaçla 6 farklı sarımsak ekstraktı (taze sarımsak, taze kaynatılmış, mikrodalga fırında ısıtılmış, toz halde, kaynatılarak toz halde ve çift santrifüjlü sarımsak ekstraktı), pozitif kontrol olarak Hidrojen Peroksit (H_2O_2) ve negatif kontrol olarak da bir gece bekletilmiş çeşme suyu kullanılmıştır. Deney materyali olarak kullanılan bakla (*Vicia faba* L) tohumları, mutagen uygulamasından sonra sarımsaklardan sulu ekstraksiyon yöntemiyle hazırlanan farklı konsantrasyonlardaki (0,025 ml/ml ve 0,25 ml/ml) farklı sarımsak ekstraktları ile muamele edilmiştir.

Hidrojen Peroksit (H_2O_2) muamelesi sonucunda hücre bölünme oranında meydana gelen azalmanın sarımsak ekstraktı uygulamaları ile artış gösterdiği ve kromozomal hasar sıklığının, farklı yöntemlerle elde edilen sarımsak ekstraktları uygulamasına bağlı olarak değiştiği ortaya çıkmıştır. Uygulama grupları içerisinde taze ve toz halde sarımsak ekstraktı uygulamalarının, diğer uygulama gruplarına göre nispeten daha etkili olduğu, ısıtma işlemi uygulanan gruplarda ise bu etkinin çok belirgin olmadığı görülmüştür. Uygulanan her iki konsantrasyon karşılaştırıldığında ise bu değişimlerin, konsantrasyona bağımlı olmaktan ziyade uygulama şekli ile ilişkili olduğu bulunmuştur.

ABSTRACT

In this study, the anti-mutagenic activity of the garlic extracts which prepared by different methods was investigated against the mutagenic effects of Hydrogen peroxide (H₂O₂). For this purpose, six different garlic extract were used. Hydrogen peroxide (H₂O₂) was used as positive control and one night aged tap water was used as negative control in this study. For this purpose, broad bean (*Vicia faba* L) seeds which were used as experiment material were treated with different aqueous garlic extracts in different concentrations (0.025ml/ml and 0.25ml/ml) after than mutagen treatment. Garlic extract treatments increased the dividing cell rate (mitotic index), which has been decreased after than Hydrogen peroxide (H₂O₂) treatment. Chromosomal aberration frequency was changed depending on garlic treatments. Fresh garlic extract and garlic powder extract treatments were more effective than the other garlic extracts. It was found that heated garlic extracts showed slight effects on mitotic index and chromosomal aberrations. When the two treatment concentrations of garlic extracts compared, it was found that these changes were more related with the application method than the treatment concentrations.

ANAHTAR SÖZCÜKLER / KEYWORDS

Sarımsak, *Vicia faba* L, Hidrojen Peroksit, antimutagenik etki, kromozomal hasar

Garlic, *Vicia faba* L, Hydrogen Peroxide, antimutagenic effect, chromosomal aberration

İÇİNDEKİLER

ÖZ.	I
ABSTRACT.....	I
ÇİZELGELER LİSTESİ.....	III
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	VI
KISALTMALAR ve SİMGELER	VIII
1. GİRİŞ.....	1
2. KONU İLE İLGİLİ ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR.....	8
3. MATERYAL ve METOT.....	15
3.1. Tohumların Seçimi ve Mutagen Uygulaması.....	15
3.1.1 Sarımsak Ekstraktlarının Hazırlanması	15
3.1.1.1. Taze Sarımsak Ekstraktı (TSE) Elde Edilmesi..	16
3.1.1.2. Taze Kaynatılmış Sarımsak Ekstraktı (TKSE) Elde Edilmesi.....	16
3.1.1.3. Mikrodalga Fırında Isıtılmış Sarımsak Ekstraktı (MDSE) Elde Edilmesi	16
3.1.1.4. Toz Halde Sarımsak Ekstraktı (TZSE) Elde Edilmesi.....	17
3.1.1.5. Kaynatarak Toz Halinde Sarımsak Ekstraktı (KTZSE) Elde Edilmesi.....	17
3.1.1.6. Çift Santrifüjlü Taze Sarımsak Ekstraktı (ÇSTSE) Elde Edilmesi.....	17
3.1.2. Denemenin Yapılışı.....	18
4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA.....	20
4.1. 0,025 ml/ml'lik Sarımsak Ekstraktı Uygulamaları.....	20
4.2. 0,25 ml/ml'lik Sarımsak Ekstraktı Uygulamaları.....	40
4.3. 0.025 ml/ml ve 0.25 ml/ml'lik Uygulama Konsantrasyonlarından Elde Edilen Verilerin Karşılaştırılması...61	
5. SONUÇLAR ve ÖNERİLER.....	70

ÖZET.....	72
SUMMARY.....	73
TEŞEKKÜR.....	74
KAYNAKLAR.....	75
EK KAYNAKLAR.....	80
ÖZGEÇMİŞ.....	81

ÇİZELGELER LİSTESİ

Çizelge 1. 0,025ml/ml'lik sarımsak ekstraktı uygulamasında kontrol ve uygulama gruplarındaki mitotik indeks değerleri	21
Çizelge 2. 0,025 ml/ml'lik sarımsak ekstraktı uygulamasında negatif kontrol ve uygulama grupları arasındaki mitotik indeks değerlerinin istatistiki sonuçları.....	22
Çizelge 3. 0,025 ml/ml'lik sarımsak ekstraktı uygulamasında pozitif kontrol ve uygulama grupları arasındaki mitotik indeks değerlerinin istatistiki sonuçları.....	22
Çizelge 4. 0,025ml/ml'lik sarımsak ekstraktı uygulamasında kontrol ve uygulama gruplarında gözlenen kromozomal hasar değerleri	23
Çizelge 5. 0,025 ml/ml sarımsak ekstraktı uygulamasında negatif kontrol ve uygulama grupları arasındaki fragment değerlerinin istatistiki sonuçları.....	25
Çizelge 6. 0,025 ml/ml sarımsak ekstraktı uygulamasında pozitif kontrol ve uygulama grupları arasındaki fragment değerlerinin istatistiki sonuçları.....	25
Çizelge 7. 0,025 ml/ml sarımsak ekstraktı uygulamasında negatif kontrol ve uygulama grupları arasındaki köprü değerlerinin istatistiki sonuçları.....	28
Çizelge 8. 0,025 ml/ml sarımsak ekstraktı uygulamasında pozitif kontrol ve uygulama grupları arasındaki köprü değerleri istatistik sonuçları.....	28
Çizelge 9. 0,025 ml/ml sarımsak ekstraktı uygulamasında negatif kontrol ve uygulama grupları arasındaki kromozom yapışması değerleri istatistik sonuçları.....	31
Çizelge 10. 0,025 ml/ml sarımsak ekstraktı uygulamasında pozitif kontrol ve uygulama grupları arasındaki kromozom yapışması değerleri istatistik sonuçları.....	31
Çizelge 11. 0,025 ml/ml sarımsak ekstraktı uygulamasında negatif kontrol ve uygulama grupları arasındaki yanlış kutuplaşma değerleri istatistik sonuçları.....	34
Çizelge 12. 0,025 ml/ml sarımsak ekstraktı uygulamasında pozitif kontrol ve uygulama grupları arasındaki yanlış kutuplaşma değerleri istatistik	

sonuçları.....	34
Çizelge 13. 0,025 ml/ml sarımsak ekstraktı uygulamasında negatif kontrol ve uygulama grupları arasındaki mikronukleus değerleri istatistik sonuçları.....	37
Çizelge 14. 0,025 ml/ml sarımsak ekstraktı uygulamasında pozitif kontrol ve uygulama grupları arasındaki mikronukleus değerleri istatistik sonuçları.....	37
Çizelge 15. 0,25ml/ml'lik sarımsak ekstraktı uygulamasında kontrol ve uygulama gruplarındaki mitotik indeks değerleri	40
Çizelge 16. 0,25 ml/ml'lik sarımsak ekstraktı uygulamasında negatif kontrol ve uygulama grupları arasındaki mitotik indeks değerlerinin istatistiki sonuçları	42
Çizelge 17. 0, 25 ml/ml'lik sarımsak ekstraktı uygulamasında pozitif kontrol ve uygulama grupları arasındaki mitotik indeks değerlerinin istatistiki sonuçları.....	42
Çizelge 18. 0,25ml/ml'lik sarımsak ekstraktı uygulamasında kontrol ve uygulama gruplarında gözlenen kromozomal hasar değerleri	43
Çizelge 19. 0,25 ml/ml sarımsak ekstraktı uygulamasında negatif kontrol ve uygulama grupları arasındaki fragment değerlerinin istatistiki sonuçları.....	45
Çizelge 20. 0,25 ml/ml sarımsak ekstraktı uygulamasında pozitif kontrol ve uygulama grupları arasındaki fragment değerlerinin istatistiki sonuçları.....	45
Çizelge 21. 0, 25 ml/ml sarımsak ekstraktı uygulamasında negatif kontrol ve uygulama grupları arasındaki köprü değerlerinin istatistiki sonuçları.....	48
Çizelge 22. 0, 25 ml/ml sarımsak ekstraktı uygulamasında pozitif kontrol ve uygulama grupları arasındaki köprü değerlerinin istatistiki sonuçları.....	48
Çizelge 23. 0, 25 ml/ml sarımsak ekstraktı uygulamasında negatif kontrol ve uygulama grupları arasındaki kromozom yapışması değerlerinin istatistiki sonuçları.....	51
Çizelge 24. 0, 25 ml/ml sarımsak ekstraktı uygulamasında pozitif kontrol ve uygulama grupları arasındaki kromozom yapışması değerlerinin istatistiki	

sonuçları.....	51
Çizelge 25. 0, 25 ml/ml sarımsak ekstraktı uygulamasında negatif kontrol ve uygulama grupları arasındaki yanlış kutuplaşma değerlerinin istatistiki sonuçları.....	54
Çizelge 26. 0,25 ml/ml sarımsak ekstraktı uygulamasında pozitif kontrol ve uygulama grupları arasındaki yanlış kutuplaşma değerlerinin istatistiki sonuçları.....	54
Çizelge 27. 0,25 ml/ml sarımsak ekstraktı uygulamasında negatif kontrol ve uygulama grupları arasındaki mikronukleus değerlerinin istatistiki sonuçları.....	57
Çizelge 28. 0,025 ml/ml sarımsak ekstraktı uygulamasında pozitif kontrol ve uygulama grupları arasındaki mikronukleus değerlerinin istatistiki sonuçları.....	57

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1. Sarımsak ekstraktlarında bulunan önemli organosülfür bileşikler.....	4
Şekil 2 Alliin metabolizması.....	6
Şekil 3. <i>Allium sativum</i> L (Sarımsak) genel görünüm.....	15
Şekil 4. <i>Vicia faba</i> L. metafaz kromozomları	15
Şekil 5. 0,025ml/ml'lik sarımsak ekstraktı uygulamasında kontrol ve uygulama gruplarındaki % Mitotik İndeks değerleri.....	21
Şekil 6. 0,025ml/ml'lik sarımsak ekstraktı uygulamasında kontrol ve uygulama gruplarındaki % fragment değerleri.....	24
Şekil 7.a, b. Gözlenen fragment oluşumları	26
Şekil 8. 0,025ml/ml'lik sarımsak ekstraktı uygulamasında kontrol ve uygulama gruplarındaki % köprü değerleri.....	27
Şekil 9. a, b. Gözlenen köprü oluşumları	29
Şekil 10. 0,025ml/ml'lik sarımsak ekstraktı uygulamasında kontrol ve uygulama gruplarındaki % kromozom yapışması değerleri.....	30
Şekil 11. a, b. Gözlenen kromozom yapışmaları	32
Şekil 12. 0,025ml/ml'lik sarımsak ekstraktı uygulamasında kontrol ve uygulama gruplarındaki % yanlış kutuplaşma değerleri	33
Şekil 13 a, b. Gözlenen yanlış kutuplaşma oluşumu	35
Şekil 14. 0,025ml/ml'lik sarımsak ekstraktı uygulamasında kontrol ve uygulama gruplarındaki % mikronukleus değerleri.....	36
Şekil 15. a, b. Gözlenen mikronukleus oluşumu	38
Şekil 16. 0,25ml/ml'lik sarımsak ekstraktı uygulamasında kontrol ve uygulama gruplarındaki % Mitotik İndeks değerleri.....	41
Şekil 17. 0,25ml/ml'lik sarımsak ekstraktı uygulamasında kontrol ve uygulama gruplarındaki % fragment değerleri	44
Şekil 18. a, b . Gözlenen fragment oluşumu.....	46
Şekil 19. 0,25ml/ml'lik sarımsak ekstraktı uygulamasında kontrol ve uygulama gruplarındaki % köprü değerleri.....	47

Şekil 20. a, b. Gözlenen köprü oluşumları	49
Şekil 21. 0,25ml/ml'lik sarımsak ekstraktı uygulamasında kontrol ve uygulama gruplarındaki % kromozom yapışması değerleri.....	50
Şekil 22 a, b. Gözlenen kromozom yapışmaları	52
Şekil 23. 0,25ml/ml'lik sarımsak ekstraktı uygulamasında kontrol ve uygulama gruplarındaki % yanlış kutuplaşma değerleri	53
Şekil 24. a, b. Gözlenen yanlış kutuplaşma oluşumu	55
Şekil 25. 0,25ml/ml'lik sarımsak ekstraktı uygulamasında kontrol ve uygulama gruplarındaki % mikronukleus değerleri	56
Şekil 26. Gözlenen mikronukleus oluşumu	58
Şekil 27 a,b. Gözlenen çekirdek yapı değişimleri	59
Şekil 27 c,d Gözlenen çekirdek yapı değişimleri	60
Şekil 27 e Gözlenen çekirdek yapı değişimleri	61
Şekil 28. Kontrol grupları ile 0,025 – 0,25 ml/ml sarımsak ekstraktı uygulamaları arasındaki % Mitotik İndeks değerlerinin karşılaştırılması	62
Şekil 29. Kontrol grupları ile 0,025 – 0,25 ml/ml sarımsak ekstraktı uygulamaları arasındaki toplam kromozom hasar değerlerinin karşılaştırması	63

KISALTMALAR ve SİMGELER

DNA	Deoksiribonükleik asit
OH [•]	Hidroksil radikali
G	Guanin
C	Sitozin
ADP	Adenozindifosfat
NAD	Nikotinamid adenin dinükleotid
ATP	Adenozintrifosfat
OSCs	Organosülfür bileşikleri
DAS	Diallil sülfid
DDAS	Diallil disülfid
DATS	Dialil trisülfid
%	yüzde
µM	mikromolar
H ₂ O ₂	Hidrojen Peroksit
z-VAD-fmk	geniş spektrumlu kaspaz inhibitörü
NAT	N-asetil transferaz
mRNA	messenger ribonükleik asit
P-gp	P-glikoproteini
SEC	<i>s</i> -etil sistein
NAC	<i>n</i> -asetil sistein
DMBA	7,12-dimetilbenzene(<i>a</i>)anthracene
g	gram
mg	miligram
dk	dakika
ml	mililitre
°C	Santigrad derece
rpm	Santrijüj dönme birimi

cm	santimetre
HCl	hidroklorik asit
mm	milimetre
K _{su}	Kontrol
M	Mutagen
TSE	Taze Sarımsak Ekstraktı
TKSE	Taze Kaynatılmış Sarımsak Ekstraktı
MDSE	Mikrodalga Fırında Isıtılmış Sarımsak Ekstraktı
TZSE	Toz Halde Sarımsak Ekstraktı
KTZSE	Kaynatarak Toz Halde Sarımsak Ekstraktı
ÇSSE	Çift Santrifüjlü Taze Sarımsak Ekstraktı
MDA	Malondialdehit
AMT	Allilmercaptan
LDL	düşük yoğunluklu lipoprotein
DMSO	dimetilsulfoksit
MAPK	Mitojenle aktive edilmiş protein kinaz
B(a)P	Benzo[<i>a</i>]pyrene
CP	cyclophosphamide
EMS	etil metan sulfonat
MI	mitotik indeks
AGE	bekletilmiş sarımsak ekstraktı
SAC	s-allil sistein

1. GİRİŞ

Günümüzde, her açıdan hızla gelişmekte olan dünyamız, bu gelişmenin yanı sıra hızlı bir çöküşe doğru da ilerlemektedir. Hayatımızı kolaylaştırıcı her türlü teknoloji büyük bir oranda çevreye zarar vermekle kalmayıp, yavaş yavaş insanlığın sonunu da hazırlamaktadır. Gelişmekte olan teknoloji sonucu ortaya çıkan atık maddeler, çevre kirliliğini ortaya çıkarmakta ve bu da insan sağlığını tehdit etmektedir. Bunun yanı sıra sigara, ultraviyole ışınlar, tarımda verimi arttırma amaçlı olarak kullanılan pestisitler ve bitkisel hormonlar da sağlığımızı bozan diğer etkenlerdir

Çevre kirliticilerine uzun süre maruz kalma oksidatif strese neden olabilmektedir. Oksidatif stres, vücudun antioksidant sistemi ile hücrelerin lipid tabakasının peroksidasyonuna neden olan serbest radikal üretimi arasındaki dengesizliktir. Serbest radikaller bir veya daha fazla eşleşmemiş elektrona sahip, kısa ömürlü, kararsız, molekül ağırlığı düşük ve çok etkin moleküllerdir (Mercan, 2004). Serbest radikaller, hidroksil, süperoksit, nitrik oksit ve lipid peroksit radikalleri gibi değişik kimyasal yapılara sahiptir (Cochrane, 1991'e atfen Mercan 2004). Serbest radikaller, vücutta hücrelere saldırırlar ve sonuçta hücrelerin tahribatına neden olurlar.

Serbest radikallerin zararından korunmak için, vücut antioksidant sistem adı verilen bir savunma sistemine sahiptir. Antioksidantlar serbest radikallerle tehlikesiz bir şekilde reaksiyona giren ve hayati öneme sahip moleküller hasar görmeden önce zincir reaksiyonunu sonlandıran moleküllerdir (Antioxidants and Free Radicals¹).

Antioksidantlar; oksidatif zincir reaksiyonlarının başlamasını ya da ilerlemesini engelleyerek, lipidlerin ve/veya diğer moleküllerin oksidasyonunu geciktirebilen veya engelleyebilen bileşiklerdir. Fenolik bileşiklerin antioksidant aktivitesinin nedeni, redoks özelliğidir. Bu özellik serbest radikallerin absorbe

¹ <http://www.rice.edu/~jenky/sports/antiox.html>

edilmesinde ve ntrlenmesinde, tekil ve üçlü oksijenin yakalanmasında veya peroksitlerin ayrıştırılmasında önemli rol oynamaktadır (Panovska et al., 2005).

Son yıllarda, bilim adamlarının hastalıklara karşı koruyucu olarak etki edebilen doğal bileşiklere olan ilgisi giderek artmaktadır (Aydın et al., 2004). Özellikle, vücudu serbest radikallerin yol açtığı hasardan koruma yeteneğindeki maddelerin keşfedilmesine yönelik yoğun bir ilgi vardır (Couladis et al., 2003). Antioksidant aktiviteye sahip kimyasallar bitkilerde yüksek konsantrasyonlarda bulunmaktadır (Velioğlu et al.,1998; Capecka et al., 2005) ve bu kimyasalların çeşitli dejeneratif hastalıkları engellemedeki rolü belirlenmiştir (Capecka et al., 2005). Özellikle polifenolik fitokimyasalların antibakteriyel (Chung et al., 1998), bağışıklığı düzenleyici, hepatoprotective (Bhattacharya et al., 2000; Lin et al., 2001), antitümör (Gali-Muhtasib et al., 2001) ve antioksidant kapasiteye sahip olduğu (Nagakawa and Yokozawa, 2002) gösterilmiştir. Epidemiyolojik alışmalar, antioksidant bileşiklerin çoğunun anti-inflamatr, anti-aterosklerotik, anti-tümör, anti-mutagenik, antibakteriyel veya anti-viral aktiviteye sahip olduğunu göstermektedir. Doğal antioksidantların vücuda alınması; kardiyovasküler hastalıklar, diyabet ve kanser gibi hastalıkların riskinin azalmasıyla doğrudan ilişkilidir (Cai et al., 2004).

Tıbbi bitkiler; çoğunluğu yüksek antioksidant aktivite gösteren polifenoller, flavonoidler, C vitamini, E vitamini ve karotenoidler (Panovska et al., 2005; Mosaddik, 2003), quinonlar, kumainler, lignanlar, alkaloidler, aminler gibi serbest radikalleri temizleyen birçok antioksidant çeşidine sahiptir (Cai et al., 2004).

Bitkilerden elde edilen ve serbest radikal moleküllerini zararsız hle getirebilen antioksidant özellikler taşıyan biyoaktif bitki bileşiklerine fitokimyasal (Phytochemicals) adı verilmektedir (Sakar ve Tanker, 1991).

Fitokimyasallar bitkilerde genellikle % 0,01–2 arasında değişen oranlarda bulunmaktadırlar. Fitokimyasalları elde etmek için, önce istenmeyen maddelerin (klorofil, pektin, protein) bitkiden uzaklaştırılması gerekmektedir. Doğal maddeler bitkilerden değişik zeltilelerle, parçalanarak soxhlet cihazında, mekanik karıştırıcılarla, ultrasonik cihazlarla, elektrik enerjisi yardımı ile, sıvı veya gazla ekstraksiyon gibi değişik metotlarla elde edilebilmektedirler. Zengin etken maddelerin benzer yapıdaki madde grubundan ayrılması veya diğer maddelerden

saflaştırılması için iki sıvı faz arasında partiyon, kristalizasyon ve kromatografik yöntemler uygulanmaktadır (Sakar ve Tanker., 1991).

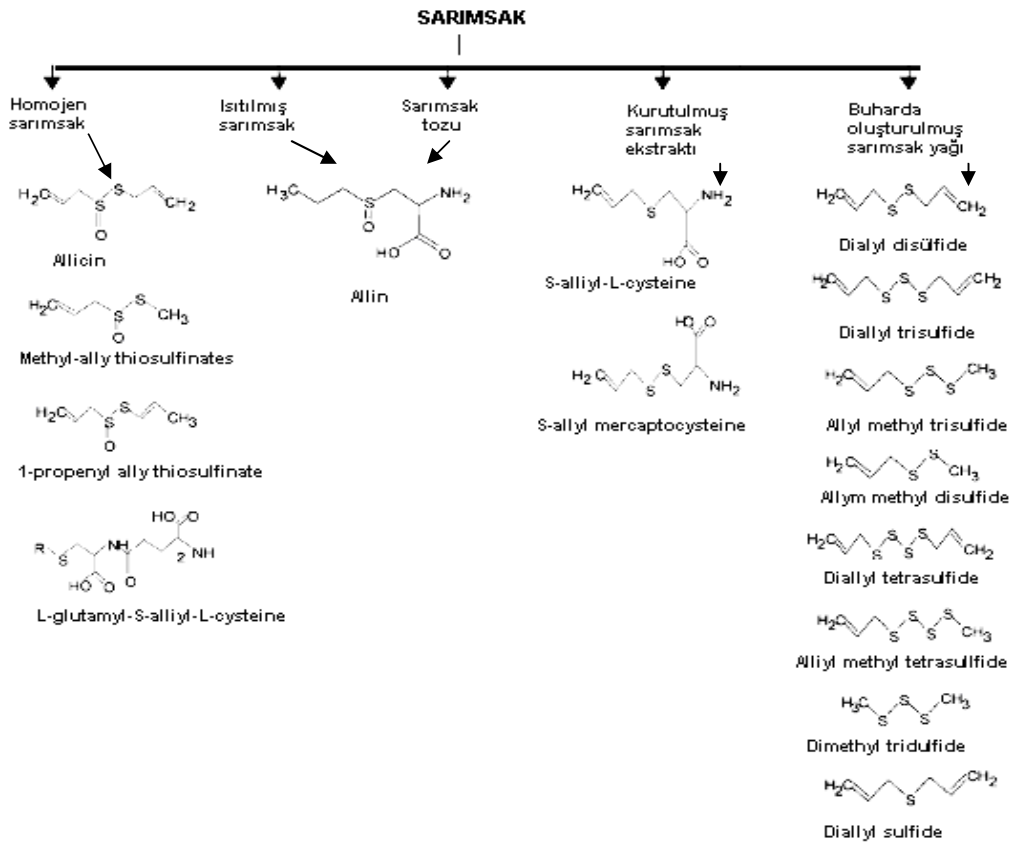
Bitkilerden elde edilen fitokimyasal bileşikler, tedavi edici etkilerinin yanı sıra son yıllarda özellikle kansere karşı kullanım alanı da bulmaya başlamıştır. Fitokimyasal bileşiklerden örneğin alkaloidler ve fenolikler özellikle kanser veya tümör önleyici aktivite göstermeleriyle, karotenoidler ise kanser engelleyici etkileriyle ön plana çıkmaktadırlar. Soya fasulyesi ve legümenlerde bulunan isoflavonoidler, kanser hücrelerinde fonksiyon kaybına neden olmakta ve aynı zamanda angiogenez olayını da inhibe etmektedirler. Ayrıca, endotelial büyüme faktörünü durdurarak tümör büyümesini engelleyerek, apoptozise yol açmaktadırlar. Alkaloidler, hücrede iğ ipliklerine etki ederek kanserli hücrelerin hücre döngüsü boyunca ilerlemesini engellemektedirler. Bunun dışında fenolik bileşikler, daha çok hücre döngüsü kontrol proteinleri ve apoptozis mekanizmasının uyarılması üzerine etkili olmaktadır (Pillia, 2004).

Liliaceae familyasına ait bir bitki olan sarımsak (*Allium sativum* L.), yaklaşık 5000 yıldır Mısır, Yunan, Hint ve Çin uygarlıkları tarafından bakterisidal, hipoglisemik, antitrombotik, antiatherosklerotik, antimutagenik ve antikanserogenik özellikleri nedeni ile, pek çok hastalığın tedavisinde kullanılmaktadır (Rivlin, 2001 'e ithafen Oommen et al., 2004). Ana yurdunun Orta Asya stepleri olduğu sanılmaktadır. Dünya üzerinde halen 300–400 çeşit sarımsağın yetiştiği bilinmektedir. Yeşilimsi beyaz veya pembe çiçekli, otsu bir kültür bitkisidir. Nadir olarak tohum bağlar. Bu nedenle soğancık (diş)'larla üretilir. Sarımsak soğanı, beyaz veya pembemsi renkli, az sayıda soğancık (diş)'dan meydana gelir. 6–15 mm arasındaki dişlerin hepsi bir arada bir kabuk tarafından sarılmışlardır. Çok kuvvetli bir kokusu ve yakıcı bir lezzeti vardır (Baytop, 1999).

Sarımsağın (*Allium sativum* L.) içeriğinde, bol miktarda su (% 65), fruktoz içeren karbonhidratlar (% 26-30), kükürt bileşikleri (% 1,1-3,5), protein (% 1,5-2,1), lif (% 1,5) ve serbest amino asitler bulunur. Ayrıca yüksek oranda saponin, fosfor, potasyum, kükürt, çinko, orta miktarda selenyum, A ve C vitaminleri ile az miktarda da kalsiyum, magnezyum, sodyum, demir, manganez ve B kompleks vitaminlerini içerir (Devrim, 2004). Uçucu yağında özellikle allil disülfür bulunur. Bu bileşik

kükürtlü bir amino asit olan alliin, alliinaz isimli enzim etkisi ile parçalanarak, allisin'i vermesi, allisin'nin de su veya su buharı ile allil disülfür'e dönüşmesi sonucu meydana gelir. Sarımsağa özel koku ve lezzetini veren taşıdığı kükürtlü uçucu yağdır (Baytop, 1999). Allisin, diallil disülfür (DADS) ve diallil sülfür (DAS) gibi etkin kükürt bileşikleri sarımsağın anti-kanser ve antioksidant özellikleriyle yakından ilişkilidir (Devrim, 2004).

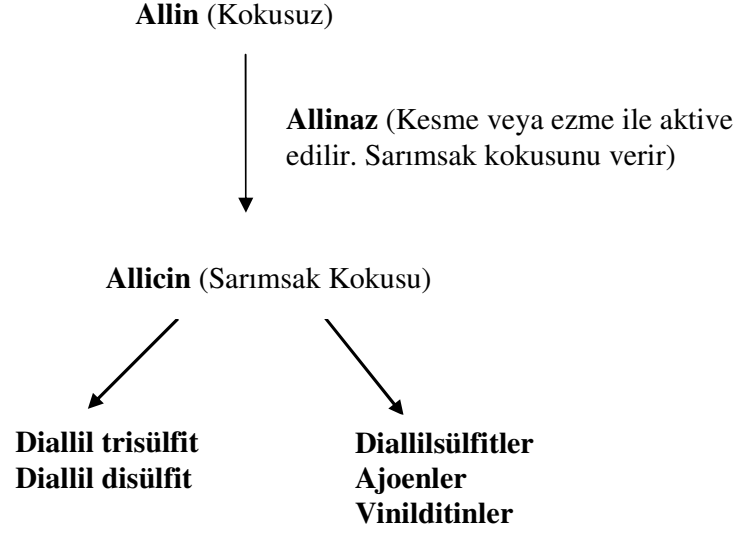
Sarımsaktan farklı yöntemlerle elde edilen ekstraktlarda, farklı ürünler ortaya çıkmaktadır. Bu ürünlerin yapıları birbirlerine çok benzemekle birlikte farklı metabolizmalarda değişik etkilere neden olmaktadır (Şekil 1).



Şekil 1: Sarımsak ekstraktlarında bulunan önemli organosülfür bileşikler (Banerjee et al.2003)

Sarımsakta bulunan aktif bileşiklerin, organosülfür (OSCs) bileşiklerinin bir türü olabileceği ileri sürülmektedir. Bu OSCs'lerin başlıca sülfür bileşenleri; allin, allicin, allylpropyl disulfide, sallylcysteine, vinylidithiines, S-allylmercaptocystein, diallil sülfid (DAS), diallil disülfid (DADS) ve dialil trisülfid (DATS), ajoene, allixin, allil mercaptan'lar ve allil metil sülfid'lerdir. Ayrıca, enzim özelliği olan allinaz, peroksidaz, mirosinaz ve aminoasit özelliğinde olan arginin, temel element olarak selenyum, germanyum gibi elementler bulunmaktadır. Sarımsak OSCs'lerinin biyolojik etkilerini belirlemede rol oynayan faktörün, allil grupları ve sülfür atomlarının sayısı olduğu da sanılmaktadır (Kemper, 2000²).

Sarımsakta bulunan en önemli bileşiklerden biri olan allicin (diallyl thiosulfinate veya diallyl disulfide), sulu sarımsak ekstraktında bulunan temel thiosulphinat bileşiğidir. Etkisini ancak, sarımsak ezilince veya kesilince göstermektedir. Sarımsak kesilir, parçalanır veya ezilirse, sarımsak dışlarının etrafını saran zarı parçalanır ve yapısında bulunan S-allilsistein sülfoksit (kokusuz bileşik olan allin olarak bilinir) allinase tarafından enzimatik olarak allicin'e dönüştürülür. Allicin, sarımsağın kendine has kokusundan sorumludur. Ancak kararsız bir bileşiktir ve mono, di ve trisülfidler ve ajoene gibi diğer bileşiklere kolayca dönüşebilir (Block, 1985'e atfen Bianchini and Vainio, 2001). Sarımsak homojenatında bulunan sülfür içeren diğer önemli bileşikler allylmethyl thiosulphanate, 1- prophenyl allyl thiosulphanate ve γ -L- glutamyl-S-allyl-L-sistein'dir (Popov et.al., 1994'e atfen Banerjee et.al., 2003) (Şekil 2).



Şekil 2. Allin metabolizması (Kemper, 2000 ²)

Sarımsağın hipolipidemik, antiatherosklerotik, hipoglisemik, antikoagülant, antihipertensitif, antimikrobiyal, antidod (ağır metal zehirlenmelerinde) hepatoprotektif ve bağışıklığı düzenleyici etkiler gibi bazı iyileştirici etkilere sahip olduğu bildirilmiştir (Agarwal, 1996 ve Agusti, 1996'a atfen Banerjee et.al., 2003). Bununla birlikte sarımsağın iyileştirici etkilerinin mekanizması çok iyi anlaşılmamıştır. Bu nedenle son yıllarda sarımsağın tıbbi özelliklerini açıklamak için yapılan çalışmalar oldukça artmıştır.

Antioksidant özellikleri olan çeşitli bitki ekstraktlarının oksidatif strese karşı koruyucu etkisinin olduğu gösterilmiştir. Son zamanlarda yapılan çeşitli çalışmalar, sarımsağın ve sarımsağın çeşitli preparasyonlarının da benzer özelliklere sahip olduğunu göstermiştir. Bu da sarımsağın iyileştirici etkilerinin bazılarını açıklayabilmektedir (Lau, 2001 ve Banejee et.al., 2002'a atfen Banerjee et.al., 2003).

İn vitro çalışmalar sarımsağın doza bağlı olarak serbest radikalleri yakalayabildiğini göstermektedir. Sulu sarımsak ekstraktının, tavşan karaciğer homojenatında bir lipid peroksidasyon ürünü olan malondialdehit (MDA)

² <http://www.mcp.edu/herbal/default.htm>

oluşumunu doza bağlı olarak engellediği ortaya konmuştur (Popov et.al.,1994'e atfen Banerjee et.al.,2003). İşlenmemiş sarımsakta bulunan başlıca metabolitlerden bir tanesi olan Allil mercaptan (AMT), triklorometil ve triklorometilperoksil serbest radikallerini yakalama yeteneğindedir (Fanelli et.al.,1998'e atfen Banerjee et.al., 2003). Sarımsağın antioksidant etkisinin kısmen NO üretimi arttırmasından kaynaklanıyor olabileceği düşünülmektedir. NO, xanthine oksidaz'ı inhibe ederek süperoksit radikalinin üretimini engellemektedir (Maslin et.al.,1997'e atfen Banerjee et.al., 2003).

Sarımsağın antioksidant etkisi hayvanlar ve insanlarla yapılan epidemiyolojik ve deneysel çalışmalar ile ortaya konmuştur. Önemli olan, sarımsaktan veya sarımsak ürünlerinden elde edilen bileşiklerden hangilerinin antioksidant etkisinin daha fazla olduğunun belirlenmesi ve bu bileşiklerin çeşitli patofizyolojik koşullarda etkin bir şekilde nasıl kullanılabileceğinin belirlenmesidir (Banerjee et.al., 2003).

Çeşitli kimyasal maddelerin, su örneklerinin ve toksik ajanların etkileri bitkisel, hayvansal ve diğer test sistemleri ile ortaya konurken, elde edilen sonuçlar da test edilen materyalin genotoksisitesi hakkında bilgi vermektedir.

Sarımsağın sağlık üzerindeki faydalarını ortaya koymaya yönelik pek çok çalışma yapılmaktadır. Bu konudaki çalışmalar genellikle hayvansal test sistemleri kullanılarak veya epidemiyolojik çalışmalar ile deneysel olarak insanlar üzerinde yapılmıştır. Bu testlerin pahalı olmalarının yanı sıra uygulama zorlukları ve uzun sürede sonuç vermeleri nedeni ile, bu tür araştırmalarda bitkisel test sistemlerinin kullanılması daha avantajlıdır. Bitkisel test sistemlerinden (*Allium cepa* L. root aberration-test, *Vicia faba*. L. root tip chromosome aberration test, *Tradescantia stamen hair mutation test*) elde edilen sonuçlar, prokaryot ve diğer eukaryotlardan oluşan test dizilerinden elde edilen sonuçlara uygunluk göstermektedir. Uygulama kolaylığı sağlaması, ucuz oluşu ayrıca kısa sürede sonuç vermesi gibi nedenlerle sarımsak ekstraktlarının mutagenlere karşı antimutagenik etkilerinin araştırılmasında, söz konusu bitkisel test sistemlerinin kullanılmasının uygun olduğu açıktır.

Sarımsak ekstraktlarının antimutagenik, antikanserojenik, antitümör özellikleri ile ilgili olarak daha önce yapılan bazı çalışmalar örnek olarak verilmiştir.

2. KONU İLE İLGİLİ ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Sulu sarımsak ekstraktlarının *E.coli* WP trp- ve *E.coli* WP2trp-vrA'de 4-nitroquinoline-1-oxide (4NQO) ile oluşturulan mutagenезisi baskıladığı ancak, UV'nin bu etkiyi göstermediği (Zhang et al., 1989), t-butyl hydroperoxide, cumene, hidrojen peroksit ve γ -radyasyonunun mutagenik etkisini azalttığı (Knasmüller et al., 1989'a atfen Bianchini and Vainio, 2001), yine sarımsağın sulu ve metanol ekstraktlarının *S. typhimurium*'da aflatoksin B₁'in mutagenik aktivitesini engellediği rapor edilmiştir (Soni et al., 1997'e atfen Bianchini and Vainio, 2001). Sarımsak ekstraktlarında bulunan organosülfür bileşiklerinden biri olan ajoene'nin antimutagenik etkinliğinin Ames Test ile araştırıldığı bir çalışmada da, ajoene'nin benzo[a]pyrene (B[a]P) ve 4-nitro-1,2-phenylenediamine (NPD)'nin oluşturduğu mutagenезisi inhibe ettiği ortaya konmuştur (Ishikawa et al., 1996). Çalışma sonucunda özellikle NPD'nin oluşturduğu mutagenезisin, ajoene tarafından oldukça etkili bir biçimde engellendiği, yine ajoene'nin transisyon mutasyonları da frame-shift mutasyonlardan (çerçeve kayması mutasyonlar) çok daha etkili bir şekilde engellediği rapor edilmiştir. Allicin'in LDL (düşük yoğunluklu lipoprotein)'nin oksidatif modifikasyonunu (Ide and Lau, 1997'e atfen Borek 2001) ve ayrıca tümör ilerlemesini önlediği (Nishino et al, 1990'a atfen Borek 2001), aflatoksinden kaynaklanan DNA hasarını engellediği ve *S. typhimurium*'da sitokrom P₄₅₀ enziminin bir kısmını inhibe ederek, mutagenезisi engellediği bildirilmiştir (Yamasaki et al., 1991'e atfen Borek 2001).

Lu ve arkadaşları (2004), T24 insan mesane kanser hücre serisinde sarımsağın etkin bileşenlerinden olan DADS (Diallyl disulfide)'in neden olduğu apoptozisin etki mekanizmasını araştırmışlardır. Bunun için T24 hücre serisi 24 saat kültüre edildikten sonra, kültür ortamına değişik konsantrasyonlarda (5, 10, 25, 50 ve 75 μ M) DADS eklenmiş, kontrol olarak ise DADS yerine çözücü bir madde olan dimetil sülfoksit (DMSO) kullanılmıştır. Hücre serileri 37 °C'de, % 5 CO₂ içeren koşullarda kültüre edilmiştir. Sonuçta DADS ile muamele edilen gruplar (tüm konsantrasyonlarda) ile kontrol arasında hücre canlılığı bakımından önemli farklılıklar olduğu gözlenmiş, başka bir deyişle DADS'ın T24 hücre serisinde

apoptozisi arttırdığı rapor edilmiştir. Ayrıca 50 µM DADS konsantrasyonunda apoptoziste anlamlı bir artış olduğu bulunmuştur. DADS muamelesinin kaspaz-3 ve -9 (*caspase-3 ve -9*; özel sistein proteazları) aktivitelerini artırarak apoptozise neden olduğu sonucuna varılmıştır. DADS, hücre içi Hidrojen Peroksit (H₂O₂) düzeylerini de artırmıştır. DADS'ın neden olduğu apoptozisin, geniş spektrumlu kaspaz inhibitörü (z-VAD-fmk) ve antioksidan (katalaz) tarafından inhibe edildiği de gösterilmiştir. Yine bu çalışmada DADS, T24 hücrelerini hücre döngüsünü G2/M evresinde tutarak M (Mitoz) evresine girmelerini önlemiştir. Araştırmacılar bu bulguların ışığında DADS'ın gelecekte insan mesane kanserinin tedavisinde etkili bir şekilde kullanılabileceğini ileri sürmüşlerdir.

Chung ve arkadaşları (2004), insan kolon kanser hücre serilerinde (colo 205, colo 320 DM ve colo 320 HSR) DAS (Diallyl Sulfide)'in değişik konsantrasyonlarda (0,5, 5, 25, 50 ve 100 µM) N-asetil transferaz (NAT) aktivitesi ve NAT gen ekspresyonu üzerine olan etkisini araştırmışlardır. N-asetilasyon arilamin, karsinojen metabolizmasının ilk basamağını oluşturmaktadır ve NAT bu basamakta rol almaktadır. Araştırmacılar yaptıkları bu çalışmada, kültüre edilen kolon kanseri hücre serilerinde 24 saatlik DAS muamelesinin, NAT aktivitesini inhibe ederek, 2-aminofluorene'nin N-asetilasyon'unu azalttığını gözlemişlerdir. Ayrıca DAS'ın insan kolon kanser hücre serilerinde NAT aktivitesini ve gen ekspresyonunu inhibe ettiğini ortaya koymuşlardır.

DADS'ın HepG2 (insan hepatoma hücre serisi) hücrelerinde apoptozis üzerine olan etkilerinin incelendiği bir çalışmada, hücre serileri 100 µM DADS ile 24 saat kültüre edilip apoptozisi belirlemek için Hoechst 33258 boyasıyla boyanıp, floresan mikroskopla gözlemlenmiş ve DADS ile muamele edilmeyen kontrol hücre serisiyle karşılaştırılmış, ayrıca hücre proliferasyonu ve canlılığı da incelenmiştir. Sonuçta, DADS'ın HepG2 hepatoma hücrelerinin üremesini inhibe ettiği gözlenmiş ve bu bulgu kısmen de olsa DADS'ın apoptotik hücre ölümünü indüklemesiyle ilişkili bulunmuştur. Bununla birlikte HepG2 hepatoma hücrelerinde, DADS'ın geçici olarak mitojenle aktive edilmiş protein kinaz (MAPK) aktivitesini arttırdığı da ortaya konmuştur. Araştırmacılar, bu kinazlar (MAPK), fosfo-p38 ve fosfo-p42/44, HepG2 hepatoma hücrelerinin apoptozisini negatif yönde düzenledikleri için, MAPK

inhibitörleri ile birlikte DADS kullanımının, hepatoma için kemositotoksik değeri olabileceğini öne sürmektedirler (Wen et al., 2004).

Yapılan çalışmalar sarımsağın antibakteriyel, antifungal, hipolipidemik, hipoglisemik, antiotrombotik, antioksidant ve antikanser özellikler gibi pek çok farmakolojik özellikleri olduğunu ortaya koymuştur (Bordia et al., 1975, Conner et al., 1984, Imai et al., 1994, Lawson et al., 1992, Mathew and Augusti 1973, Rees et al., 1993 'e atfen Song and Milner 2001).

Son zamanlarda mikrodalgada ya da fırında ısıtma işleminin sarımsağın antikarsinogenik özellikleri üzerindeki etkisinin araştırıldığı, çok sayıda çalışma yapılmıştır. Bu konuda yapılan bir çalışmada, 60 saniye mikrodalgada veya 45 dakika kadar fırında ısıtılan sarımsakların ısıtma sonucunda, fare meme epitel hücre DNA'sına DMBA ([7,12- dimetilbenzene(a)anthracene])'in bağlanmasını engelleme yeteneğini kaybettiği ortaya konmuştur. Bu çalışma ısıtma işleminin, sarımsağın antikanser özelliği ile ilişkili aktif bir bileşiği olan allil sülfür oluşturma etkisini de ortadan kaldırdığını göstermektedir. Yine çalışma sonucunda 30 saniye mikrodalgada ısıtılan sarımsakların alliinaz aktivitesini %90 oranında kaybettiğini de kanıtlanmıştır (Song and Milner, 2001).

Arora ve ark. (2004); kanser kemoterapisinde önemli engellerden biri olan çoklu ilaç direnci (*multidrug resistance*) gelişiminden sorumlu P-glikoproteininin (P-gp) DAS tarafından düzenlenmesini araştırmışlardır. Bu amaçla, K562 (insan lösemi hücre serisi) lösemi hücrelerini, vinblastin sitotoksitesine karşı dirençli hale getirerek; K562/R hücre serisini elde etmişlerdir. Bu hücre serisinde vinkristin, doxorubicin ve diğer antineoplastik ajanlar arasında karşı da çapraz dirence sahip olduğunu gözlemişlerdir. DAS'ın toksik olmayan konsantrasyonu ($8,75 \times 10^{-3}$ M) uygulama süresine bağımlı olarak, dirençli K562/R10 lösemi hücrelerinde zamana bağlı olarak vinblastin ve vinkristin'in sitotoksik etkisini arttırmıştır. İmmünohistokimyasal ve western blotting yöntemleriyle DAS'ın dirençli hücrelerde indüklenmiş P-gp düzeylerini düşürdüğü gösterilmiştir. Ayrıca in vivo kombine çalışmalar, DAS'ın fare hepatositlerinde vinca alkaloidleri'nin indüklediği P-gp'nin aşırı üretimini etkili bir şekilde engellediğini de ortaya koymuştur. Sonuçta araştırmacılar, DAS'ın toksik olmayan ve yeni çoklu ilaç direnci düzenleyicisi

olabileceği ve diyetle birlikte bir gıda desteği olarak kullanılabileceğini ileri sürmüşlerdir.

Diallil sülfid (DAS), diallil di sülfid (DADS), *s*-ethyl sistein (SEC) ve *n*-asetil sistein (NAC)'nin; sığır kıymasında renk kaybına, lipid oksidasyonuna ve mikrobiyal kontaminasyona karşı koruyucu olarak, antioksidant ve antimikrobiyal özelliklerini araştırmışlardır. Çalışma sonucunda, sarımsakta bulunan organosülfür bileşiklerin hem oksimiyoglobini hem de lipid oksidasyonlarını anlamlı derecede geciktirdiği ortaya konmuştur. Bu organosülfür bileşiklerin antioksidant etkisinin doza bağlı olduğu ve α -tokoferole göre anlamlı derecede daha fazla antioksidant aktivite gösterdiği bulunmuştur. DAS ve DADS'ın sığır kıymasında bulunan aerob bakterilerin sayısını anlamlı derecede azalttığı ve kıymaya aşılınmış beş patojenik bakterinin (*S. typhimurium*, *E.coli*, 0157:H7, *L.monocytogenes*, *S.aureus* ve *C. Jejuni*) büyümesini engellediği bildirilmiştir (Yin and Cheng, 2003).

Yapılan bir başka çalışmada yine fare deri tümörü oluşumu üzerine diallil sülfid (DAS)'in etkileri araştırılmıştır. Çalışmada, farelerin derisine karsinogenik etkisi bilinen [7,12- dimetilbenzene(*a*)anthracene (DMBA)] veya benzo[*a*]pyrene (B(*a*)P) bir saat boyunca uygulanmıştır. DAS uygulaması, DMBA ve (B(*a*)P) uygulamasından bir saat önce ve bir saat sonra yapılmıştır. İstatistiksel analizler, karsinogen maddenin önce ve sonra verilmesi sonucunda, her iki denemede de olumlu sonuçlar alındığını ancak, DMBA muamelesinden bir saat sonra yapılan DAS uygulamasının tümör oluşumunu önlemede daha fazla etkili olduğunu ortaya koymuştur (Singh and Shulka, 1998).

Güçlü bir mutagen olan Cyclophosphamide (CP)'in mutagenik etkinliğine karşı sarımsak ekstraktının antimutagenik etkisi, İsviçre albino farelerinin kemik iliğinde in vivo kromozomal hasar testi kullanılarak araştırılmıştır. Çalışmada, intraperitoneal olarak 25 mg/kg dozda CP uygulamasından önce, farelere ağız yoluyla beş gün boyunca %1, %2,5 ve %5 oranında sarımsak ekstraktı verilmiştir. Uygulamadan 24 saat ve 48 saat sonra kemik iliği hücrelerindeki kromozomal hasarlar incelenmiştir.

Sarımsak ekstraktı uygulanan gruplarda kromozomal hasarların, pozitif kontrol grubuna göre önemli derecede azaldığı, ayrıca mitotik indeksin de önemli derecede

artış gösterdiği ortaya konmuştur. Araştırmacılar mitotik indeksteki artışa bağlı olarak, sarımsak ekstraktlarının antitotoksik etkileri olduğunu da öne sürmüşlerdir (Shulka and Taneja, 2002)

Sarımsakta bulunan doğal bir bileşik olan ajoene'in de insan glutatyon redüktaz enziminin substratını inhibe ederek, hücrede oksidatif stresi arttırdığı bildirilmiştir (Gallwitz et.al., 1999'e atfen Banerjee et.al., 2003). Ajoene insan lösemi hücrelerinde peroksit üretimini uyararak ve kappaB çekirdek faktörünü aktive ederek, apoptozise neden olmaktadır. Bu da ajoene'nin antitümör etkisini kısmen açıklamaktadır (Dirsch et al.,1998'e atfen Banerjee et.al., 2003).

Epidemiyolojik çalışmalar kanser, kalp ve damar hastalıkları gibi hastalık risklerinin sarımsak tüketimi ile azaldığını ve aralarında ters bir ilişki olduğunu göstermektedir (Steinmetz et.al., 1994, Kendler.,1987'e atfen Banerjee et.al., 2003). Sarımsağın bu hastalıkları nasıl koruduğuna ilişkin koruma mekanizması, hala çok açık değildir. Sarımsak hem antioksidant hem de oksidant özelliğe sahip çok sayıda kimyasal içermektedir. Bu nedenle, sarımsaktan antioksidant özelliğe sahip toksik ya da okside edici olmayan kimyasalların izolasyonu ve tanımlanması önem taşımaktadır. Örneğin, gıda takviyesi olarak sarımsak yağının geniş bir doz aralığı kullanılmaktadır ve sarımsak yağının bazı dozları kesinlikle toksiktir. Dolayısıyla herhangi bir in vivo antioksidant ya da başka etkiyi ortaya koyan bir çalışma yapılmadan önce, sarımsağın kullanılacak bütün dozlarda güvenli olmayacağını göz önüne alınması gerekmektedir (Banerjee et.al., 2003).

Ayrıca alliin, allicin gamma-glutamyl sistein, diallil sülfid ve diallil disülfid gibi sarımsak bileşenleri in vitro'da antioksidant etki göstermelerine rağmen, taze sarımsak tüketiminden sonra serumda ve idrarda bu bileşiklere rastlanmamıştır. Bu nedenle in vitro çalışmalardan elde edilen sonuçların in vivo'ya ne derece uyarlanabileceği konusu da halen tartışmalıdır (Banerjee et.al., 2003).

Aşkın Çelik ve Aslantürk (2006), *Plantago lanceolata* L. sulu ekstraktının antimitotik ve antigenotoksik etkilerini Allium Test yöntemi ile araştırmışlardır. Bu amaçla; 15 g/l ve 30 g/l konsantrasyonlardaki *Plantago lanceolata* L. sulu ekstraktlarını %0,7'lik Hidrojen Peroksit (H₂O₂) ile muamele ettikleri soğan

köklerine uygulamışlardır. Sonuçta, Hidrojen Peroksit (H_2O_2) muamelesi ile azalan mitotik indeksin ve artan kromozomal hasarların, ekstrakt muamelesi yapılan gruplarda kontrol gruplarına göre önemli derecede azaldığını; *Plantago lanceolata* L. sulu ekstraktlarının antimitotik ve antigenotoksik etkiye sahip olduğunu ortaya koymuşlardır.

Yine domateste bulunan ve güçlü bir antioksidant olan likopenin, alkilleyici bir ajan olan Etil Metan Sulfonat (EMS)'in neden olduğu kromozomal hasarlara karşı koruyucu etkisinin olup olmadığının Allium Test yöntemiyle araştırıldığı bir başka çalışmada; 0.02M ve 0.03M EMS ile muameleden önce yapılan 1 μ M, 3 μ M ve 5 μ M likopen uygulamasının mitotik indeksi ve kromozomal hasarları önemli ölçüde azalttığı (koruyucu etki); 10 μ M'lık likopen uygulandığında ise koruyucu etkinin azaldığı rapor edilmiştir (Aslantürk ve Aşkın Çelik, 2006). Likopen uygulaması mutagen uygulamasından sonra yapıldığında ise; mutagenin neden olduğu kromozomal hasarların benzer şekilde 1 μ M, 3 μ M ve 5 μ M'lık likopen uygulamasında önleyici etkisi olduğu ancak 10 μ M'lık likopen uygulamasında bu önleyici etkinin azaldığı da ortaya konmuştur (Aslantürk ve Aşkın Çelik, 2005).

Denememizde farklı yöntemlerle elde edilen sarımsak ekstraktlarının (taze sarımsak, sulu ekstrakt, çift santrifüjlü ekstrakt, kaynatılmış sarımsak ekstraktı vb) hidrojen peroksidin (H_2O_2) oluşturduğu mutagenik etkiye karşı, antimutagenik etkinliği araştırılmıştır.

Sarımsak ekstraktlarının klastojenik ve antimutagenik etkileri hakkında çok fazla bilgi bulunmamaktadır. Bu nedenle bu çalışmadan elde edilecek veriler, sarımsaktan farklı yöntemlerle elde edilen ekstraktların gerek antimutagenik gerekse antikanserojenik özellikleri hakkında daha fazla bilgi elde edilmesini sağlayacak ayrıca; sarımsağın gıda takviyesi olarak diyetle tüketiminin özendirilmesi ve belki de önerilmesi kanser ve kalp damar sistemi rahatsızlıkları gibi kronik hastalıklardan korunmada yararlı olabilecektir.

Gıda takviyesi amacı ile kullanılacak sarımsak ekstraktlarının hangi konsantrasyon ve hangi yöntemle iyileştirici etkide bulunma nedeninin kesin olarak belirlenebilmesi için, farklı test sistemleri ve farklı konsantrasyon aralıkları

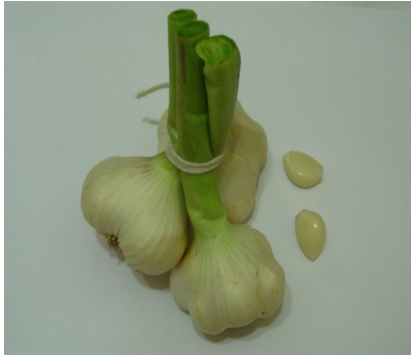
kullanılarak, daha ayrıntılı çalışmalar yapılmasına gerek duyulduğu açıktır.

Sarımsak ekstrelerinin standardize edilerek in vitro ve in vivo çalışmalarla etki mekanizmalarının aydınlatılması, yan etkilerinin saptanması, kontrollü klinik çalışmalarla biyolojik faydalarının belirlenmesi, bundan sonraki çalışmaların yönünün saptanmasını sağlamada yardımcı olacaktır.

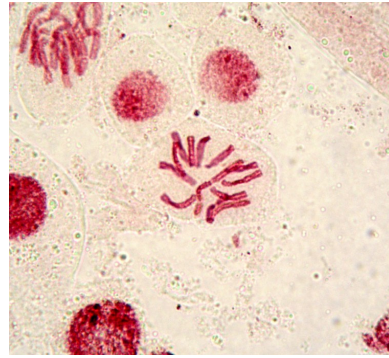
3. MATERYAL VE METOT

3.1: Materyalin Seçimi ve Mutagen Uygulaması

Denemede kullanılan sarımsaklar (*Allium sativum* L.) Muğla'nın Ula ilçesindeki yerel halk pazarından, bakla (*Vicia faba* L; $2n=12$) tohumları ise, Ege Üniversitesi Tarımsal Araştırma Uygulama Merkezi'nden temin edilmiştir.



Şekil 3. *Allium sativum* L (Sarımşak) genel görünüm



Şekil 4 : *Vicia faba* L. metafaz kromozomları ($2n= 12$)

Denemede her muamele grubu için 10'ar adet bakla tohumu seçilmiş ve denemeye başlamadan önce tohumlar 10 ml ticari sodyum hipoklorid içerisinde 1 dakika bekletilerek, steril edilmiştir. Tohumlar sodyum hipoklorid'in uzaklaştırılması amacı ile yarım saat süreyle kuvvetli akan çeşme suyunda yıkanmışlardır

3.1.1 Sarımşak Ekstraktlarının Hazırlanması

Ekstrakt elde etmek üzere kullanılacak olan sarımşakların kabukları soyularak, yağ ağırlıkları alınmıştır (~ 450±5 g).

Sarımsak ekstraktlarının elde edilmesinde farklı yöntemler kullanılmıştır. Bu yöntemler:

3.1.1.1. Taze Sarımsak Ekstraktı (TSE) Elde Edilmesi

Sarımsaklar ezilmiş ve kendi ağırlığı (450±5 g) kadar distile suda bir parçalayıcı vasıtası ile homojenize edilmişlerdir. Elde edilen karışım 30 dakika boyunca oda sıcaklığında bekletildikten sonra, 5 dakika boyunca santrifüjde 6000 rpm devirde santrifüjlenmiş ve santrifüjlenen karışımın üst kısmında toplanan sıvı sarımsak ekstraktı (100 ml) steril şişeler içerisine alınarak denemeler yapılıncaya kadar +4 °C’de saklanmıştır.

3.1.1.2. Taze Kaynatılmış Sarımsak Ekstraktı (TKSE) Elde Edilmesi

Tartılan sarımsaklar (450±5 g) kendi ağırlığı kadar (450±5 ml) su içerisinde ısıtıcı vasıtası ile 30 dk boyunca kaynatılmış ve süre sonunda bir parçalayıcı yardımı ile küçük parçalara ayrılmıştır. Elde edilen karışım 30 dakika boyunca oda sıcaklığında bekletildikten sonra, 5 dakika boyunca santrifüjde 6000 rpm devirde santrifüjlenmiştir. Santrifüjlenen karışımın üst kısmında toplanan sıvı sarımsak ekstraktı (100 ml) steril şişeler içerisine alınarak, denemeler yapılıncaya kadar +4 °C’de saklanmıştır.

3.1.1.3. Mikrodalga Fırında Isıtılmış Sarımsak Ekstraktı (MDSE) Elde Edilmesi

Soyulmamış sarımsak dişleri distile su içerisine alınarak, 1100 watt’lık mikrodalga fırında 1 dakika boyunca bekletilmiştir. Süre sonunda dış kabukları soyulan sarımsaklar ezilerek, kendi ağırlığı (450±5 g) kadar distile suda bir parçalayıcı vasıtası ile homojenize edilmişlerdir. Elde edilen karışım 30 dakika boyunca oda sıcaklığında bekletildikten sonra, 5 dakika boyunca santrifüjde 6000 rpm devirde santrifüjlenmiş ve santrifüjlenen karışımın üst kısmında toplanan sıvı sarımsak ekstraktı (100 ml) steril şişeler içerisine alınarak, denemeler yapılıncaya kadar +4 °C’de saklanmıştır.

3.1.1.4. Toz Halde Sarımsak Ekstraktı (TZSE) Elde Edilmesi

Bir parçalayıcı yardımı ile küçük parçalara ayrılan sarımsaklar oda sıcaklığında kurutulmaya bırakılmışlardır. Kuruyan parçalar toz haline getirilmiş ve kuru ağırlığının (200±10 g) yaklaşık 10 katı kadar distile su eklenerek 5 dakika boyunca 6000 rpm devirde santrifüjlenmiştir. Santrifüjlenen karışımın üst kısmında toplanan sıvı sarımsak ekstraktı (100 ml) steril şişeler içerisine alınarak, denemeler yapıncaya kadar +4 °C’de saklanmıştır.

3.1.1.5. Kaynatarak Toz Halinde Sarımsak Ekstraktı (KTZSE) Elde Edilmesi

Tartımı yapılan sarımsaklar (450±5 g) içerisinde 450±5 ml su bulunan bir behere alınarak, bir ısıtıcı vasıtası ile 30 dk boyunca kaynatılmış ve süre sonunda kaynatılan sarımsaklar, bir parçalayıcı yardımı ile parçalanarak, steril kurutma kağıtları üzerinde, oda sıcaklığında kurutulmaya bırakılmışlardır. Kurutularak toz haline getirilen sarımsak üzerine kuru ağırlığının (200±10 g) yaklaşık 10 katı kadar distile su eklenerek, 5 dakika boyunca 6000 rpm devirde santrifüj yapılmıştır. Santrifüjlenen karışımın üst kısmında toplanan sıvı sarımsak ekstraktı (100 ml) steril şişeler içerisine alınarak, denemeler yapıncaya kadar +4 °C’de saklanmıştır.

3.1.1.6. Çift Santrifüjlü Taze Sarımsak Ekstraktı (ÇSTSE) Elde Edilmesi

Sarımsaklar ezilmiş ve kendi ağırlığı (450±5 g) kadar distile suda bir parçalayıcı vasıtası ile homojenize edilmiştir. Karışım 30 dakika boyunca oda sıcaklığında bekletildikten sonra, 5 dakika boyunca santrifüjde 6000 rpm devirde santrifüjlenmiş ve üst kısımda kalan 250 ml’lik kısım alınarak 5 dakika boyunca santrifüjde 6000 rpm devirde 2. kez santrifüjlenmiştir. 2. santrifüj sonucunda santrifüjlenen karışımın üst kısmında toplanan sıvı sarımsak ekstraktı (100 ml) steril şişeler içerisine alınarak, denemeler yapıncaya kadar +4 °C’de saklanmıştır.

Farklı yöntemler kullanılarak elde edilen sarımsak ekstraktlarından ön denemeler sonucunda, tez kapsamında kullanılmak üzere iki farklı uygulama konsantrasyonu (0,025 ml/ml ve 0,25 ml/ml) belirlenmiştir.

3.1.2. Denemenin Yapılışı

Her muamele grubu için seçilen 10'ar tohum öncelikle bir gece bekletilmiş çeşme suyunda 24 saat bekletilerek, tohumların mutagen olarak kullanılan Hidrojen Peroksit (H_2O_2)'i ve uygulanacak olan sarımsak ekstraktlarını içlerine almaları kolaylaştırılmaya çalışılmıştır. 24 saatlik süre sonucunda tohumlar % 0,7'lik Hidrojen Peroksit (H_2O_2) ile 1 saat muamele edilmiştir (pozitif kontrol). Negatif kontrol olarak bir gece bekletilmiş çeşme suyu kullanılmıştır. Muamele edilen bakla tohumları içerisinde denemede kullanılmak üzere 5 tanesi seçilmiş ve farklı yöntemlerle elde edilen sarımsak ekstraktları, seçilen bu 5 tohuma uygulanmıştır. Aralarına pamuk konulan kurutma kâğıtları petrilere döşenerek, farklı yöntemlerle elde edilen sarımsak ekstraktlarından iki ayrı konsantrasyonda (0,025 ml/ml ve 0,25 ml/ml) hazırlanan ekstraktlar ile ıslatılmışlardır. Bu şekilde hazırlanan petri kutularına yerleştirilen tohumlar, 26 °C'de çimlenmeye bırakılmışlardır. Ortam nemliliğini sağlamak amacı ile tohumlar deneme boyunca 0,025 ml/ml ve 0,25 ml/ml'lik farklı dozlardaki sarımsak ekstraktları ile ıslatılmışlardır. Birincil köklerin çıkışını takiben tohum kabukları, tohuma zarar vermeden dikkatli bir şekilde çıkarılarak, köklerin yeterli büyüklüğe ulaşmaları beklenmiştir (4-5 gün). 2-3 cm uzunluğa ulaşan birincil köklerin uçtan 5 mm kadar'lık kısmı ve ikincil köklerin çıkmasına yardımcı olmak amacıyla sürgünler de kesilmiştir. Tohumlar ikincil köklerin çıkması için yeniden 26 °C'de çimlenmeye bırakılmışlardır. 1-2 cm uzunluğa ulaşan ikincil kökler (2-3 gün), bir pens ve jilet yardımıyla kesilerek, taze hazırlanmış Farmer Fiksatif (3 Alkol:1 Asetik Asit)'inde fikse edilmişlerdir. 24 saatlik fikse süresi sonucunda kökler %70'lik alkol içerisine alınarak, denemeler yapıncaya kadar +4 °C'de buzdolabında saklanmıştır (Kanaya et al., 1994).

Fikse edilen kökler incelemenden birkaç saat önce 1 N HCl ile 3 dk hidroliz edilerek, %2'lik aseto-orcein içerisinde boyanmıştır. Boyanan köklerden, kaliptra

kısmı uzaklaştırıldıktan sonra her bir konsantrasyon için 5'er adet bakla tohumu ve her bir bakla tohumunda da 5'er adet kök kullanılarak, aseto-orcein ezme preparat yöntemine uygun olarak hazırlanan preparatlar, mikroskopik gözleme alınmıştır (Kanaya et al., 1994). Mikroskopik gözlemler, bilgisayara görüntü aktarma cihazına sahip Olympus BX50 tipi araştırma mikroskopunda 15 x 40 büyütmede yapılmıştır.

Her bir kökte tesadüfî olarak seçilen 3 ayrı bölgede yapılan mikroskopik gözlemlerde; toplam hücre sayısı, bölünen hücre sayısı, mitotik indeks (MI) ve kromozom hasarları (fragment, kromozom köprüleri, yanlış kutuplaşmalar ve kromozom yapışmaları) ve mikronukleuslar dikkate alınmıştır.

Her bir denemeye ait elde edilen veriler, dağılımı içeren genel bir tabloya aktarılmış ve sonuçlar, istatistikî olarak (SPSS 10.0 paket programı, Independent Samples t-Test ile) değerlendirilmiştir.

Mikroskopik fotoğraflar ise üzerinde dijital fotoğraf makinesi bulunan Olympus BX51 tipi araştırma mikroskopundan 10 x 100 büyütmede çekilmiştir.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

Araştırmamızda farklı yöntemlerle hazırlanmış sarımsak ekstraktlarının mutagen (Hidrojen Peroksit, H₂O₂) uygulanmış bakla tohumları (*Vicia faba* L) üzerindeki antimutagenik etkileri incelenmiştir.

Farklı yöntemler kullanılarak elde edilen sarımsak ekstraktlarından literatür taramaları ve ön denemeler sonucunda belirlenen iki farklı konsantrasyon (0,025 ml/ml ve 0,25 ml/ml) uygulamasına ait veriler, iki farklı grupta toplanarak verilmiştir.

4.1. 0,025 ml/ml'lik Sarımsak Ekstraktı Uygulamaları

Denemede kullanılan her bir konsantrasyon ve kontrol grupları (negatif ve pozitif kontrol) için, eşit sayıda bakla tohumu kullanılarak kök ucu meristem hücrelerinde sayımlar yapılmıştır.

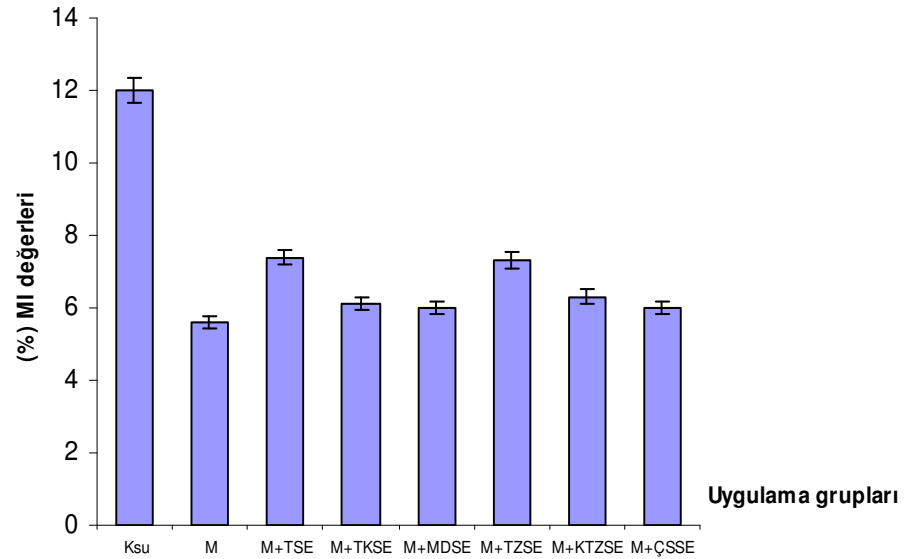
Sarımsak ekstraktlarının mutagenin hücre bölünmesi ve kromozomal hasarlar üzerindeki etkisini nasıl değiştirdiğinin gözlenmesi amacı ile değişik parametreler göz önüne alınmıştır. Bu parametreler mitotik indeks değerlerindeki değişimler ve kromozomal hasarlar (fragment, köprü, kromozom yapışması, yanlış kutuplaşmalar) ile mikronukleuslar'dır. Denemeler kontrollü şartlar altında (ortam sıcaklığı, köklenme zamanı, ortam nemi vb) yapıldığı halde, mitotik indeks değerlerinde farklılıkların ortaya çıktığı gözlenmiştir.

Örneğin, negatif kontrolde %12 olan mitotik indeks (MI) değeri, mutagen uygulamasında (pozitif kontrol) oldukça azalmıştır (%5,6). Mutagen uygulamasını takiben sarımsak ekstraktı uygulamalarından elde edilen veriler, MI de artışlar olduğu ve bu artışın en fazla taze sarımsak (M+TSE) ekstraktı ve toz haldeki (M+TZSE) sarımsak ekstraktı uygulaması yapılan gruplarda ortaya çıktığını göstermektedir (sırası ile %7,4 ve %7,3). Isıtılma işlemi uygulanan sarımsak ekstraktı gruplarında ise; MI' de bir miktar artış olmasına rağmen, belirlenen MI değerleri genellikle pozitif kontrol değerine yakındır (Çizelge 1, Şekil 5).

Çizelge1: 0,025ml/ml'lik sarımsak ekstraktı uygulamasında kontrol ve uygulama gruplarındaki mitotik indeks değerleri

Uygulama Grupları	Sayılan Hücre (Toplam)	Bölünen Hücre (Toplam)	Mitotik İndeks %±SD
K_{su}	16470	1995	12 ± 3,06
M	18602	1039	5,6 ± 1,50
M+TSE	18366	1356	7,4 ± 2,40
M+TKSE	17802	1085	6,1 ± 2,60
M+MDSE	15117	896	6,0 ± 1,50
M+TZSE	18048	1322	7,3 ± 2,80
M+KTZSE	16957	1076	6,3 ± 2,38
M+ÇSSE	17941	1085	6,0 ± 1,90

(**K_{su}**: Kontrol, **M**: Mutagen , **TSE**: Taze Sarımsak Ekstraktı, **TKSE**: Taze Kaynatılmış Sarımsak Ekstraktı, **MDSE**: Mikrodalga Fırında Isıtılmış Sarımsak Ekstraktı, **TZSE**: Toz Halde Sarımsak Ekstraktı, **KTZSE**: Kaynatarak Toz Halde Sarımsak Ekstraktı, **ÇSSE**: Çift Santrifüjli Taze Sarımsak Ekstraktı)



Şekil 5. 0,025ml/ml'lik sarımsak ekstraktı uygulamasında kontrol ve uygulama gruplarındaki % mitotik indeks değerleri

Farklı yöntemlerle hazırlanmış sarımsak ekstraktlarının, mitotik indeks üzerindeki değiştirici etkileri, pozitif ve negatif kontroller ile karşılaştırıldığında; negatif kontrol ile uygulama grupları arasında gözlenen farklılıkların önemli

olduğunu (Çizelge 2); mutagen uygulamasından sonra pozitif kontrol ile uygulama grupları arasında gözlenen farklılıkların, taze sarımsak ekstraktı (M+TSE) ve toz haldeki sarımsak ekstraktı (M+TZSE) uygulaması hariç istatistiki açıdan önemsiz olduğu görülmektedir (Çizelge 3).

Çizelge 2. 0,025 ml/ml'lik sarımsak ekstraktı uygulamasında negatif kontrol ve uygulama grupları arasındaki mitotik indeks değerlerinin istatistiki sonuçları

Karşılaştırma grupları	P
K _{su} -M+TSE	0,000*
K _{su} -M+TKSE	0,000*
K _{su} - M+MDSE	0,000*
K _{su} -M+TZSE	0,000*
K _{su} -M+KTZSE	0,000*
K _{su} -M+ÇSSE	0,000*

***P<0,05 olduğunda aradaki fark önemlidir**

Çizelge 3. 0,025 ml/ml sarımsak ekstraktı uygulamasında pozitif kontrol ve uygulama grupları arasındaki mitotik indeks değerlerinin istatistiki sonuçları

Karşılaştırma grupları	P
M-M+TSE	0.006*
M-M+TKSE	1
M-M+MDSE	1
M-M+TZSE	0.012*
M-M+KTZSE	0.993
M-M+ÇSSE	1

***P<0,05 olduğunda aradaki fark önemlidir**

Denemede mitotik indeksin yanı sıra kromozom yapı ve davranışlarında meydana gelen değişiklikler de incelenmiştir. Durum yine farklı yöntemlerle elde edilen ekstraktlar için ayrı ayrı değerlendirildiğinde, farklı sonuçların ortaya çıktığı görülmektedir (Çizelge 4).

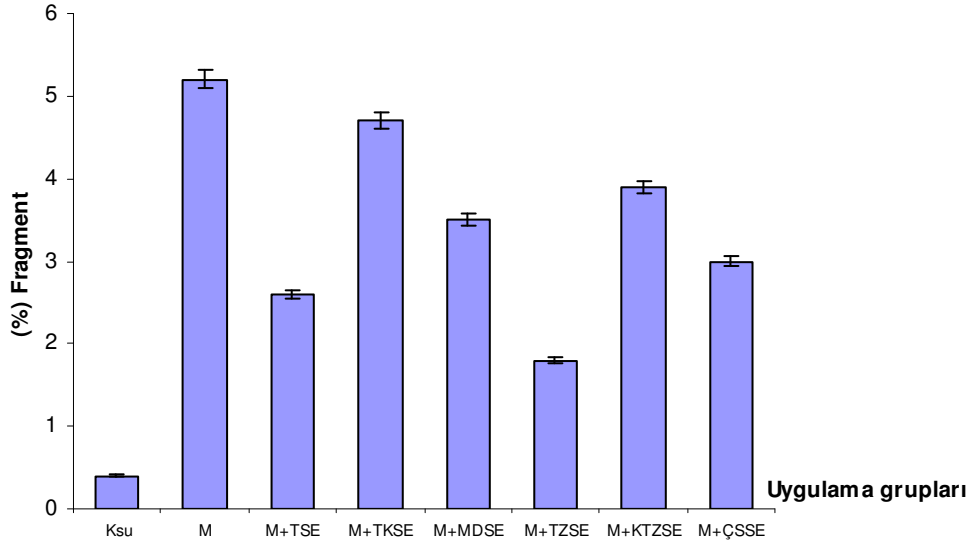
Çizelge 4: 0,025ml/ml'lik sarımsak ekstraktı uygulamasında kontrol ve uygulama gruplarında gözlenen kromozomal hasar değerleri

Uygulama Grupları	Bölünen Hücre (Toplam)	Fragment %±SD	Köprü %±SD	Kromozom Yapışması %±SD	Yanlış Kut. %±SD	Mikronuk. %±SD	Toplam Kromozom Hasarı %±SD
K _{su}	1995	0,4±0,12	0,5±0,12	0,5±0,19	0,65±0,26	0,15±0,02	2,3 ± 0,23
M	1039	5,2±1,4	2±0,8	28±5,7	5,1±1,78	2,3±0,43	43,5 ± 4,5
M+TSE	1356	2,6±0,6	1,6±0,34	22±5,1	3,7±1,13	1,3±0,14	31,8 ± 3,23
M+TKSE	1085	4,7±1,56	2,1±0,32	26±5,67	1,5±0,62	2±0,61	36,7 ± 2,62
M+MDSE	896	3,5±0,84	2,3±0,34	28±3,12	4,5±0,65	1,3±0,2	40,3 ± 3,85
M+TZSE	1322	1,8±0,23	2±0,45	16±4,16	2,2±0,52	0,9±0,32	24,1 ± 2,51
M+KTZSE	1076	3,9±1,06	2,5±0,78	24±5,87	2,6±0,84	1,3±0,27	35,3 ± 3,15
M+ÇSSE	1085	3±0,41	1,8±0,16	19±1,26	2,3±0,5	0,9±0,02	27,4 ± 2,34

(K_{su}: Kontrol, M: Mutagen , TSE: Taze Sarımsak Ekstraktı, TKSE: Taze Kaynatılmış Sarımsak Ekstraktı, MDSE: Mikrodalga Fırında Isıtılmış Sarımsak Ekstraktı, TZSE: Toz Halde Sarımsak Ekstraktı, KTZSE: Kaynatarak Toz Halde Sarımsak Ekstraktı, ÇSSE: Çift Santrifüjli Taze Sarımsak Ekstraktı)

Fragmentler, kromozomların normal koşullar dışında fiziksel ya da kimyasal ajanlarla etkilenmeleri sonucunda, kırılmaları ile ortaya çıkar. Özellikle güçlü bir mutagen olduğu bilinen Hidrojen Peroksit (H₂O₂)'in fragment oluşumu üzerinde oldukça etkili olduğu bilinmektedir. Denememizde Hidrojen Peroksit (H₂O₂) uygulaması sonucunda (pozitif kontrol) elde edilen fragment değerlerinin, negatif kontrolle karşılaştırıldığında oldukça artış gösterdiği görülmektedir (negatif kontrolde % 0,4; pozitif kontrol %5,2). Mutagen uygulamasından sonra sarımsak ekstraktları uygulandığında ise; fragment oranının mutagen uygulamasına göre

azaldığı, fragment oranını azaltmada en etkili uygulamanın; mutagen uygulamasından sonra toz haldeki sarımsak ekstraktı (M+TZSE) uygulaması sonucunda olduğu ortaya çıkmıştır (% 1,8). Kaynatılarak hazırlanmış taze sarımsak ekstraktı (M+TKSE) uygulaması ise, fragment oluşumunu azaltmada en az etki gösteren uygulama olmuştur. Bu uygulamadaki fragment oranı pozitif kontrolde elde edilen değere oldukça yakındır (pozitif kontrol, %5,2; M+TKSE, % 4,7). Durum hem Çizelge 4’den hem de Şekil 6’dan izlenebilir.



Şekil 6. 0,025ml/ml’lik sarımsak ekstraktı uygulamasında kontrol ve uygulama gruplarındaki % fragment değerleri

Farklı yöntemlerle hazırlanmış sarımsak ekstraktlarının, fragment oluşumu üzerindeki etkileri pozitif ve negatif kontroller ile karşılaştırıldığında; negatif kontrol ile uygulama grupları arasında gözlenen farklılıkların, mutagen uygulamasından sonra toz haldeki sarımsak ekstraktı (M+TZSE) uygulaması hariç istatistiki açıdan önemli olduğu görülmektedir (Çizelge 5).

Çizelge 5. 0,025 ml/ml sarımsak ekstraktı uygulamasında negatif kontrol ve uygulama grupları arasındaki fragment değerlerinin istatistiki sonuçları

Karşılaştırma grupları	P
K _{su} -M+TSE	0,000*
K _{su} -M+TKSE	0,000*
K _{su} - M+MDSE	0.005*
K _{su} -M+TZSE	0.267
K _{su} -M+KTZSE	0,000*
K _{su} -M+ÇSSE	0.002*

***P<0,05 olduğunda aradaki fark önemlidir**

Pozitif kontrol ile uygulama grupları arasında gözlenen farklılıkların, Mutagen+Taze Sarımsak ekstraktı (M+TSE), Taze kaynamış sarımsak ekstraktı (M+TKSE) ve Toz halde Kaynamış Sarımsak Ekstraktı (M+KTZSE) uygulamalarda istatistiki açıdan önemsiz, diğer uygulamalarda ortaya çıkan farklılıkların önemli olduğu ortaya çıkmıştır (Çizelge 6).

Çizelge 6. 0,025 ml/ml sarımsak ekstraktı uygulamasında pozitif kontrol ve uygulama grupları arasındaki fragment değerlerinin istatistiki sonuçları

Karşılaştırma grupları	P
M-M+TSE	0.106
M-M+TKSE	1
M-M+MDSE	0.01*
M-M+TZSE	0,000*
M-M+KTZSE	0.901
M-M+ÇSSE	0.019*

***P<0,05 olduğunda aradaki fark önemlidir**

Mikroskopik incelemeler sonucunda gözlenen fragment oluşumlarının fotoğrafları Şekil 7 a ve 7 b'de yer almaktadır.



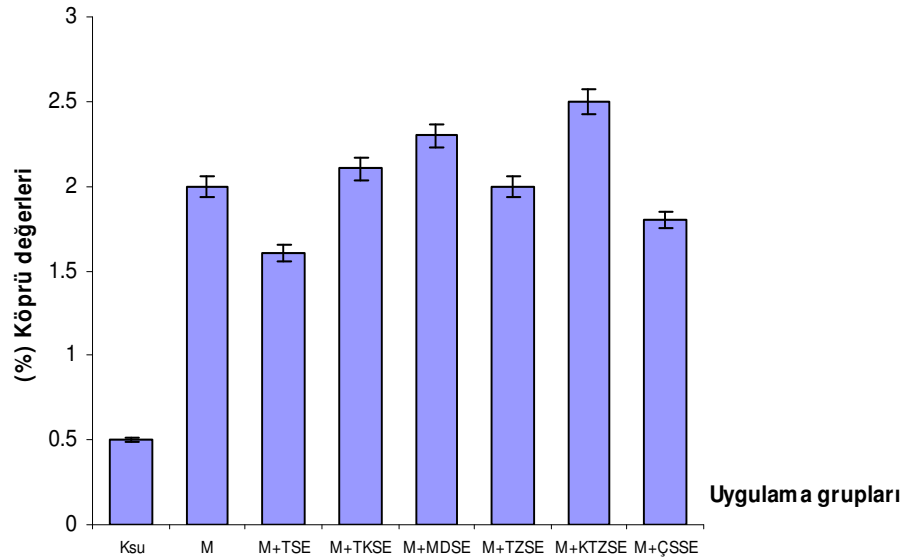
7 a



7 b

Şekil 7 a, b. Gözlenen fragment oluşumları (M.B. 10 x 100)

Denemenin her aşamasında sıklıkla gözlenen bir diğer kromozom hasarı da, köprülerdir. Köprüler, herhangi bir dış etki nedeni ile kromozom ya da kromatidlerde oluşabilecek kırıklar ve yeniden yapışmalar sonucunda, anafazda kromozomların veya kromatidlerin kutuplara çekilmesi sırasında ortaya çıkmaktadır. Denememizde bakla kök ucu meristem hücreleri kullanıldığı için, mikroskopik gözlemlerde tesbit edilenler de, mitotik kromatid köprüleridir. Negatif kontrolde saptanan köprülerin oranı % 0,5 iken; pozitif kontrolde köprü oranında artış olmuştur (% 2). Mutagenden sonra Taze Sarımsak Ekstraktı (M+TSE) ve Çift Santrifüjlü Sarımsak Ekstraktı (M+ÇSSE) uygulaması sonrasında köprü değerlerinde gözlenen azalmaların (% 1,6 ve % 1,8) istatistikî açıdan bir önemi yoktur (Çizelge 4). Mutagenden sonra uygulanan diğer sarımsak ekstraktı uygulamalarında ise, köprü oluşumunda azalma olmadığı gibi, artışlar olduğu, özellikle kaynatarak Toz halde Sarımsak Ekstraktı (M+KTZSE) uygulamasında bu artışın oldukça belirgin olduğu görülmektedir (Çizelge 4, Şekil 8).



Şekil 8. 0,025ml/ml'lik sarımsak ekstraktı uygulamasında kontrol ve uygulama gruplarındaki % köprü değerleri

Farklı yöntemlerle hazırlanmış sarımsak ekstraktları uygulaması sonucunda elde edilen köprü değerlerinin pozitif ve negatif kontroller ile elde edilen değerler ile karşılaştırılması sonucunda; negatif kontrol ile uygulama grupları arasında gözlenen farklılıkların önemli olduğu; pozitif kontrol ile uygulama grupları arasında gözlenen farklılıkların ise, istatistiki açıdan da önemli olmadığı görülmektedir (Çizelge 7 ve 8).

Çizelge 7. 0,025 ml/ml sarımsak ekstraktı uygulamasında negatif kontrol ve uygulama grupları arasındaki köprü değerlerinin istatistiki sonuçları

Karşılaştırma grupları	P
$K_{su} - M + TSE$	0.000*
$K_{su} - M + TKSE$	0.000*
$K_{su} - M + MDSE$	0.000*
$K_{su} - M + TZSE$	0.000*
$K_{su} - M + KTZSE$	0.000*
$K_{su} - M + ÇSSE$	0.000*

***P<0,05 olduğunda aradaki fark önemlidir**

Çizelge 8. 0,025 ml/ml sarımsak ekstraktı uygulamasında pozitif kontrol ve uygulama grupları arasındaki köprü değerlerinin istatistiki sonuçları

Karşılaştırma grupları	P
$M - M + TSE$	1
$M - M + TKSE$	1
$M - M + MDSE$	1
$M - M + TZSE$	1
$M - M + KTZSE$	1
$M - M + ÇSSE$	1

***P<0,05 olduğunda aradaki fark önemlidir**

Mikroskobik incelemeler sonucunda gözlenen mitotik köprü oluşumlarının fotoğrafları Şekil 9 a ve 9 b'de yer almaktadır.



9 a

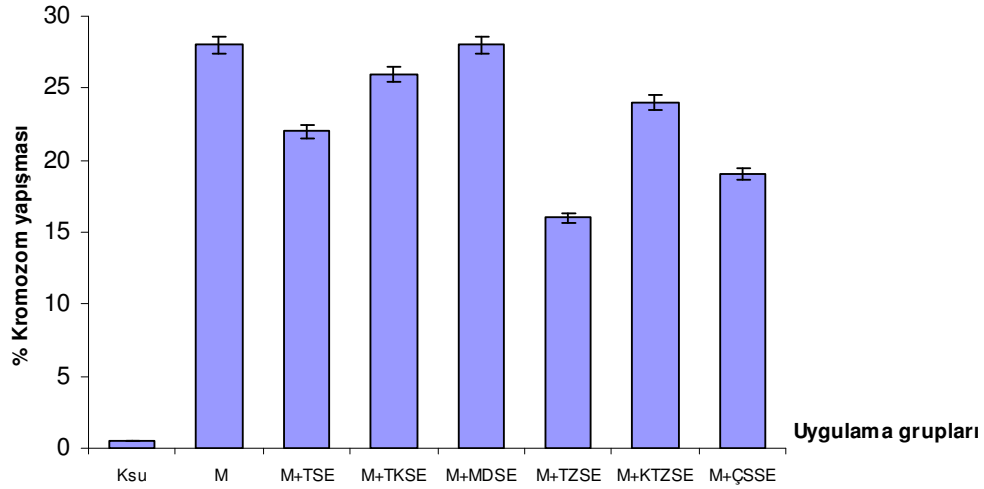


9 b

Şekil 9 a,b. Gözlenen köprü oluşumları (M.B. 10 x 100)

Metafazda, kromatidlerin metafaz düzleminde kümeleşerek, birbirlerinden ayrılamamaları ile ifade edilebilecek olan kromozom yapışmaları da denememizin her aşamasında görülen diğer bir kromozom hasarındır.

Negatif kontrol uygulamasında % 0,5 olan kromozom yapışması değeri, pozitif kontrolde % 28 gibi oldukça yüksek bir orana yükselmiştir. Mutagen uygulamasından sonra sarımsak ekstraktı uygulamaları yapıldığında, kromozom yapışması oranlarında farklılıklar olduğu ortaya çıkmıştır. Örneğin; mutagenden sonra Toz halde Sarımsak Ekstraktı (M+TZSE) uygulanması ile kromozom yapışması değeri %16'ya gerilerken, Mutagen + Mikrodalga (M+MDSE) uygulamasında ise yeniden pozitif kontrol değerine ulaşmıştır (% 28). Diğer sarımsak ekstraktı uygulamaları da kromozom yapışmalarını azaltma yönünde kayda değer bir etkide bulunmamıştır. Durum Çizelge 4 ve Şekil 10'dan da izlenebilir.



Şekil 10. 0,025ml/ml'lik sarımsak ekstraktı uygulamasında kontrol ve uygulama gruplarındaki % kromozom yapışması değerleri

Negatif ve pozitif kontrol ile uygulama grupları arasında yapılan istatistikî analizlerde, özellikle negatif kontrol ile uygulama grupları arasında gözlenen farklılıkların önemli olduğu ($p < 0,05$; Çizelge 9); pozitif kontrol ile uygulama

grupları arasında gözlenen farklılıkların ise; Mutagen+ Toz halde Sarımsak Ekstraktı (M+TZSE) ve Mutagen + Çift Santrifüjlü Sarımsak Ekstraktı (M+ÇSSE) uygulamaları haricinde, istatistiki açıdan önemsiz olduğu ortaya çıkmıştır (Çizelge 10).

Çizelge 9. 0,025 ml/ml sarımsak ekstraktı uygulamasında negatif kontrol ve uygulama grupları arasındaki kromozom yapışması değerlerinin istatistiki sonuçları

Karşılaştırma grupları	P
K _{su} -M+TSE	0,000*
K _{su} -M+TKSE	0,000*
K _{su} - M+MDSE	0,000*
K _{su} -M+TZSE	0,000*
K _{su} -M+KTZSE	0,000*
K _{su} -M+ÇSSE	0,000*

***P<0,05 olduğunda aradaki fark önemlidir**

Çizelge 10. 0,025 ml/ml sarımsak ekstraktı uygulamasında pozitif kontrol ve uygulama grupları arasındaki kromozom yapışması değerlerinin istatistiki sonuçları

Karşılaştırma grupları	P
M-M+TSE	1
M-M+TKSE	1
M-M+MDSE	0.982
M-M+TZSE	0.016*
M-M+KTZSE	1
M-M+ÇSSE	0.025*

***P<0,05 olduğunda aradaki fark önemlidir**

Mikroskopik incelemeler sonucunda gözlenen kromozom yapışmalarının fotoğrafları Şekil 11 a ve 11 b'de yer almaktadır.



11 a

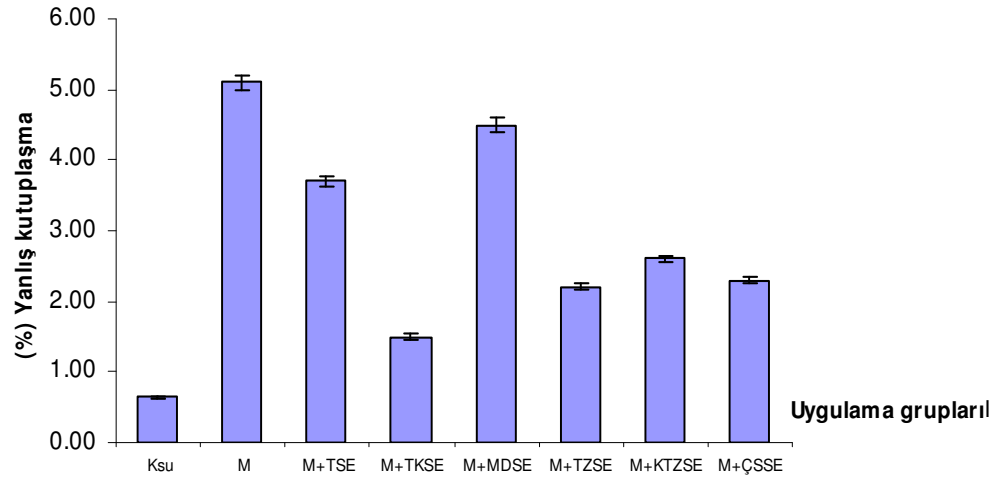


11 b

Şekil 11 a.b. Gözlenen kromozom yapışmaları (M.B. 10 x 100)

Denememizin her aşaması için yapılan mikroskopik incelemelerde gözlenen bir diğer anomali de, yanlış kutuplaşmalardır. Yanlış kutuplaşma, kromatidlerin metafazdan sonra anafaz hareketini yaparken hücrenin uzun eksenindeki kutuplara doğru gitmeleri gerekirken, hücrenin çapraz ya da yan kutuplarına çekilmeleri ile ortaya çıkmaktadır.

Negatif kontrolde % 0,65 olan yanlış kutuplaşma oranı, pozitif kontrolde % 5,1'e çıkmıştır. Mutagen muamelesinden sonra sarımsak ekstraktı uygulamaları sonucunda, uygulama grupları arasındaki en düşük yanlış kutuplaşma oranı, Taze Kaynatılmış Sarımsak Ekstraktı (M+TKSE) uygulamasında ortaya çıkmıştır (% 1,5; Çizelge 4). Diğer ekstrakt uygulamalarında da pozitif kontrolle karşılaştırıldığında yanlış kutuplaşma oranlarında azalmalar meydana geldiği, ancak Mutagen+ Mikrodalga fırında ısıtılmış Sarımsak Ekstraktı (M+MDSE) uygulamasında, yanlış kutuplaşma oranının pozitif kontrol değerine yaklaştığı görülmektedir. Durum, Çizelge 4 ve Şekil 12'den de izlenebilir.



Şekil 12. 0,025ml/ml'lik sarımsak ekstraktı uygulamasında kontrol ve uygulama gruplarındaki % yanlış kutuplaşma değerleri

Denememizde, negatif kontrol ile uygulama gruplarında elde edilen değerlerin istatistiki analizleri yapıldığında, yanlış kutuplaşma oluşumunda gözlenen farklılıkların; Mutagen+Taze sarımsak ekstraktı (M+TSE) ve Mutagen+Mikrodalga

fırın Sarımsak Ekstraktı (M+MDSE) hariç önemli olmadığı (Çizelge 11) görülmektedir. Pozitif kontrol ile uygulama grupları arasında gözlenen farklılıkların istatistiki analizleri de, Mutagen +Taze Sarımsak Ekstraktı (M+TSE) ve Mutagen+Mikrodalga Fırın Sarımsak Ekstraktı (M+MDSE) uygulama gruplarında farklılıkların önemsiz olduğunu; diğer uygulama gruplarında gözlenen farklılıkların ise istatistiki açıdan önemli olduğunu ortaya koymuştur (Çizelge 12).

Çizelge 11. 0,025 ml/ml sarımsak ekstraktı uygulamasında negatif kontrol ve uygulama grupları arasındaki yanlış kutuplaşma değerlerinin istatistiki sonuçları

Karşılaştırma grupları	P
K _{su} -M+TSE	0,000*
K _{su} -M+TKSE	1
K _{su} - M+MDSE	0.001*
K _{su} -M+TZSE	0.414
K _{su} -M+KTZSE	0.681
K _{su} -M+ÇSSE	0.894

***P<0,05 olduğunda aradaki fark önemlidir**

Çizelge 12. 0,025 ml/ml sarımsak ekstraktı uygulamasında pozitif kontrol ve uygulama grupları arasındaki yanlış kutuplaşma değerlerinin istatistiki sonuçları

Karşılaştırma grupları	P
M-M+TSE	1
M-M+TKSE	0,000*
M-M+MDSE	0.894
M-M+TZSE	0.015*
M-M+KTZSE	0.004*
M-M+ÇSSE	0.001*

***P<0,05 olduğunda aradaki fark önemlidir**

Mikroskopik incelemeler sonucunda gözlenen yanlış kutuplaşmalara ait fotoğraflar, Şekil 13 a ve 13 b’de yer almaktadır.



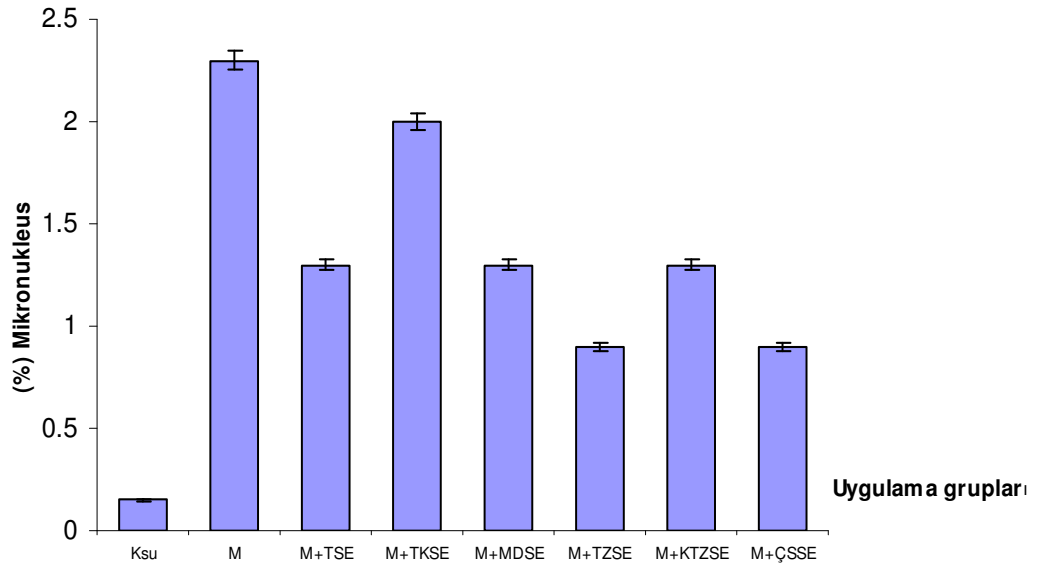
13 a



13 b

Şekil 13 a,b. Gözlenen yanlış kutuplaşma oluşumu (M.B. 10 x 100)

Denememizde mikronukleuslar da mikroskopik incelemelerde dikkate alınan bir diğer parametredir. Negatif kontrolde %0,15 olan mikronukleus değeri, pozitif kontrolde % 2,3'e yükselmiştir. Mutagen muamelesinden sonra Taze Kaynamış Sarımsak Ekstraktı (M+TKSE) uygulaması hariç (% 2 ki; bu oran pozitif kontrol değerine oldukça yakındır); mutagenden sonra sarımsak ekstraktı uygulanan diğer bütün gruplarda mikronukleus oranında azalmalar olduğu görülmektedir. Mikronukleus oluşumunu azaltmadaki en etkili uygulama ise; Toz halde Sarımsak Ekstraktı (M+TZSE) ve Çift Santrifüjlü Sarımsak Ekstraktı (M+ÇSSE) uygulamaları olmuştur (her iki uygulamada da % 0,9) (Çizelge 4 ve Şekil 14).



Şekil 14. 0,025ml/ml'lik sarımsak ekstraktı uygulamasında kontrol ve uygulama gruplarındaki % mikronukleus değerleri

Denememizde, negatif kontrol ile uygulama gruplarında elde edilen değerlerin istatistiki analizleri yapıldığında, negatif kontrol ile uygulama grupları arasında gözlenen farklılıkların sadece Mutagen+Taze Sarımsak Ekstraktı (M+TSE) ve Mutagen+Taze Kaynamış Sarımsak Ekstraktı (M+TKSE) uygulamalarında önemli

bulunmuştur (Çizelge 13). Pozitif kontrol ile uygulama grupları arasında gözlenen farklılıkların ise, sadece Mutagen+Çift Santrifüj Sarımsak Ekstraktı (M+ÇSSE) uygulamasında istatistiki açıdan önemli olduğu bulunmuştur (Çizelge 14). Diğer gruplardaki farklılıklar ise istatistiki açıdan önem taşımamaktadır.

Çizelge13. 0,025 ml/ml sarımsak ekstraktı uygulamasında negatif kontrol ve uygulama grupları arasındaki mikronukleus değerlerinin istatistiki sonuçları

Karşılaştırma grupları	P
K _{su} -M+TSE	0.002*
K _{su} -M+TKSE	0,000*
K _{su} - M+MDSE	0.508
K _{su} -M+TZSE	0.508
K _{su} -M+KTZSE	0.136
K _{su} -M+ÇSSE	0.917

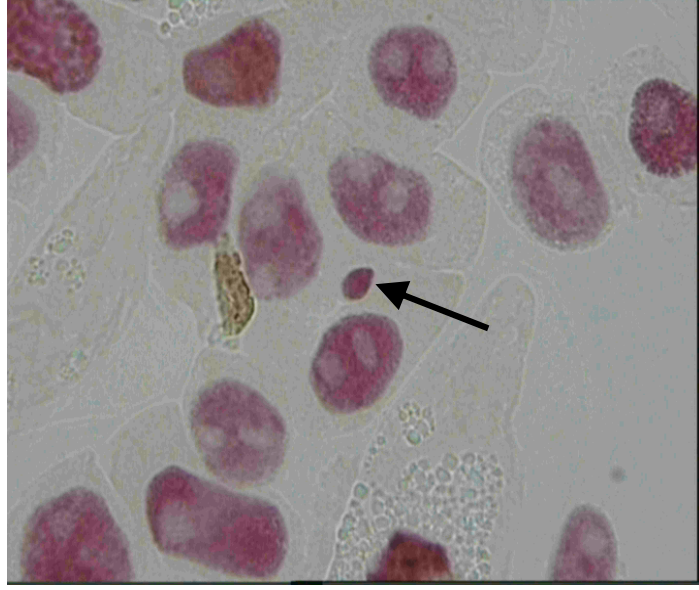
***P<0,05 olduğunda aradaki fark önemlidir**

Çizelge 14. 0,025 ml/ml sarımsak ekstraktı uygulamasında pozitif kontrol ve uygulama grupları arasındaki mikronukleus değerlerinin istatistiki sonuçları

Karşılaştırma grupları	P
M-M+TSE	0.986
M-M+TKSE	1
M-M+MDSE	0.056
M-M+TZSE	0.056
M-M+KTZSE	0.286
M-M+ÇSSE	0.007*

***P<0,05 olduğunda aradaki fark önemlidir**

Mikroskobik incelemeler sonucunda gözlenen mikronukleuslara ait fotoğraflar, Şekil 15 a ve 15 b'de yer almaktadır.



15 a



15 b

Şekil 15 a, b. Gözlenen mikronukleus oluşumu (M.B. 10 x 100)

Deneme sonucunda gözlenen bütün kromozomal hasarlar toplam olarak değerlendirildiğinde; negatif kontrolde %2,3 olan toplam kromozomal hasar değeri, pozitif kontrolde mutagenin doğası gereği beklenildiği gibi oldukça yüksek bir değere ulaşmıştır (%43,5). Mutagenden sonra sarımsak ekstraktları uygulandığında toplam kromozomal hasar değerlerinin azalma eğiliminde olduğu; ancak bu azalmaların yine de negatif kontrol değerlerine göre yüksek bir oranda olduğu söylenebilir. Uygulanan bütün sarımsak ekstraktları içerisinde toplam kromozomal hasarlar üzerinde en belirgin azaltıcı etkinin, Mutagenden sonra Toz halde sarımsak ekstraktı (M+TZSE) uygulamasında ortaya çıktığı görülmektedir (Çizelge 4).

4.2. 0,25 ml/ml'lik Sarımsak Ekstraktı Uygulamaları

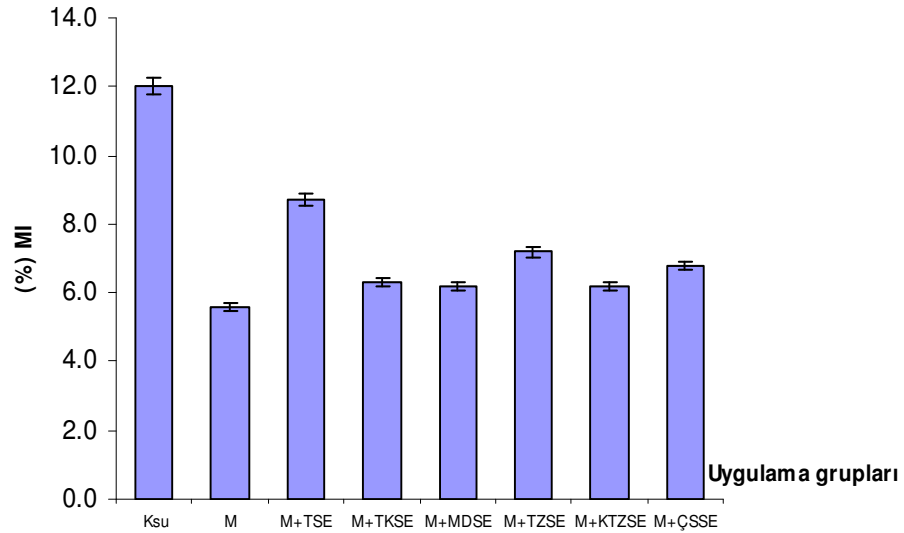
Denemenin ikinci kısmında da birinci denemede olduğu gibi, kontrol (negatif ve pozitif kontrol) ve uygulama grupları için eşit sayıda bakla tohumu kullanılarak, kök ucu meristem hücrelerinde sayımlar yapılmıştır.

Mitotik indeks (MI) değeri negatif kontrolde %12 iken; mutagen muamelesi ile Mitotik İndeks'in beklenildiği gibi oldukça azalması dikkat çekicidir (%5,6). Mutagen muamelesi sonucunda mitotik indekste görülen azalma, sarımsak ekstraktı uygulamaları ile değişmiştir. Bu değişim, mitotik indeksin (dolayısı ile bölünen hücre oranının) artışa geçmesi şeklinde olmuştur. MI değerinde gözlenen en belirgin artış; mutagen muamelesinden sonra Taze Sarımsak Ekstraktı uygulamasında (M+TSE) gözlenmesine rağmen (%8,7), diğer sarımsak ekstraktı uygulamalarının da mitotik indeks üzerinde olumlu etkilerde bulunduğu söylenebilir (Çizelge 15, Şekil 16).

Çizelge 15: 0,25ml/ml'lik sarımsak ekstraktı uygulamasında kontrol ve uygulama gruplarındaki mitotik indeks değerleri

Uygulama Grupları	Sayılan Hücre (Toplam)	Bölünen Hücre (Toplam)	Mitotik İndeks % ±SD
K_{su}	16470	1995	12±3,06
M	18602	1039	5,6±1,50
M+TSE	18106	1577	8,7±1,90
M+TKSE	18337	1156	6,3±1,95
M+MDSE	16500	1025	6,2±1,82
M+TZSE	17848	1291	7,2±2,30
M+KTZSE	16815	1048	6,2±2,01
M+ÇSSE	17608	1208	6,8±1,88

(**K_{su}**: Kontrol, **M**: Mutagen, **TSE**: Taze Sarımsak Ekstraktı, **TKSE**: Taze Kaynatılmış Sarımsak Ekstraktı, **MDSE**: Mikrodalga Fırında Isıtılmış Sarımsak Ekstraktı, **TZSE**: Toz Halde Sarımsak Ekstraktı, **KTZSE**: Kaynatarak Toz Halde Sarımsak Ekstraktı, **ÇSSE**: Çift Santrifüjlü Taze Sarımsak Ekstraktı)



Şekil 16. 0,25ml/ml'lik sarımsak ekstraktı uygulamasında kontrol ve uygulama gruplarındaki % mitotik indeks değerleri

Mitotik indeks değerlerinin istatistiksel analizleri sonucunda negatif ve pozitif kontrol ile uygulama gruplarında gözlenen değişimlere ilişkin sonuçlar, Çizelge 16 ve Çizelge 17'de yer almaktadır.

Çizelge 16'de yer alan değerlere bakıldığında, negatif kontrol ile uygulama grupları arasında ortaya çıkan farklılıkların, $p < 0.05$ seviyesinde önemli olduğu görülmektedir. Pozitif kontrol ile uygulama grupları arasında yapılan istatistiksel analizler ise; gözlenen farklılıkların Mutagen+Taze Sarımsak Ekstraktı (M+TSE) ve Mutagen+Toz halde Sarımsak Ekstraktı (M+TZSE) uygulamalarında diğer uygulama gruplarına göre daha çok artışa neden olduğu için önemli olduğunu, ancak diğer uygulamalar arasında gözlenen farklılıkların ise daha az artışa neden olduğu için istatistiksel açıdan önem taşımadığını ortaya koymaktadır. (Çizelge 17).

Çizelge 16. 0,25 ml/ml sarımsak ekstraktı uygulamasında negatif kontrol ve uygulama grupları arasındaki mitotik indeks değerlerinin istatistiki sonuçları

Karşılaştırma grupları	P
K _{su} -M+TSE	0,000*
K _{su} -M+TKSE	0,000*
K _{su} - M+MDSE	0,000*
K _{su} -M+TZSE	0,000*
K _{su} -M+KTZSE	0,000*
K _{su} -M+ÇSSE	0,000*

***P<0,05 olduğunda aradaki fark önemlidir**

Çizelge 17. 0,25 ml/ml sarımsak ekstraktı uygulamasında pozitif kontrol ve uygulama grupları arasındaki mitotik indeks değerlerinin istatistiki sonuçları

Karşılaştırma grupları	P
M-M+TSE	0,000*
M-M+TKSE	0,998
M-M+MDSE	1
M-M+TZSE	0,02*
M-M+KTZSE	0,786
M-M+ÇSSE	0,03

***P<0,05 olduğunda aradaki fark önemlidir**

Denemenin ikinci kısmında da mitotik indeksin yanı sıra kromozom yapı ve davranışlarında meydana gelen değişiklikler de incelenmiştir. Durum yine denemenin her aşaması için ayrı ayrı değerlendirildiğinde, farklı sonuçlar elde edilmiştir.

Mutagen muamelesinden sonra farklı yöntemler kullanılarak hazırlanmış sarımsak ekstraktları uygulaması sonucunda, ekstrakt uygulamaları fragment oranı üzerinde etkili olmuştur (Çizelge 18).

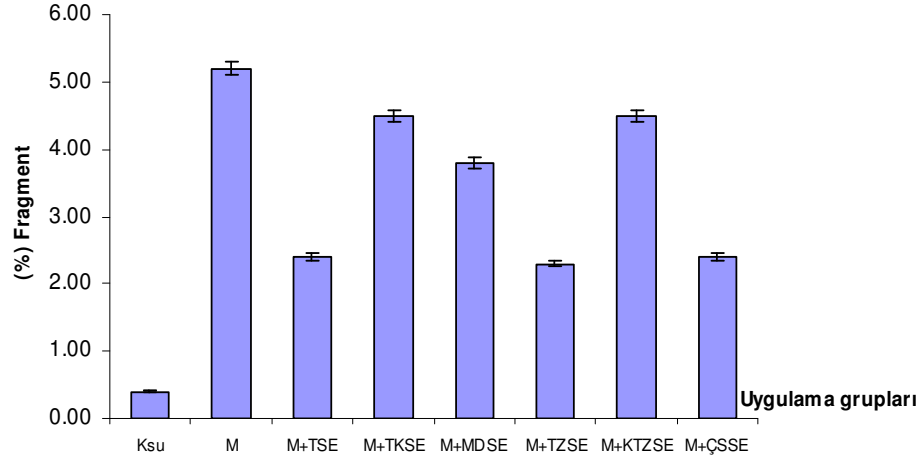
Çizelge 18: 0,25ml/ml'lik sarımsak ekstraktı uygulamasında kontrol ve uygulama gruplarında gözlenen kromozomal hasar değerleri

Uygulama Grupları	Bölünen Hücre (Toplam)	Fragment %±SD	Köprü %±SD	Kromozom Yapışması %±SD	Yanlış Kut. %±SD	Mikronuk. %±SD	Toplam Kromozom Hasarı %±SD
K _{su}	1995	0,4 ± 0,12	0,5 ± 0,12	0,5 ± 0,19	0,65 ± 0,26	0,15 ± 0,02	2,3 ± 0,23
M	1039	5,2 ± 1,4	2 ± 0,8	28 ± 5,7	5,1 ± 1,78	2,3 ± 0,43	43,5 ± 4,5
M+TSE	1577	2,4 ± 0,98	1,1 ± 0,23	20 ± 5,6	2,7 ± 0,68	1 ± 0,34	27,5 ± 2,8
M+TKSE	1156	4,5 ± 1,67	1,9 ± 0,85	25 ± 5,2	2,1 ± 0,46	2 ± 0,67	38,6 ± 3,21
M+MDSE	1025	3,8 ± 0,93	3 ± 0,84	25 ± 2,46	3,6 ± 0,27	1,5 ± 0,09	37,6 ± 3,05
M+TZSE	1291	2,3 ± 1,3	2,3 ± 0,96	18 ± 4,2	2,1 ± 0,21	0,8 ± 0,09	25,9 ± 2,27
M+KTZSE	1048	4,5 ± 1,84	3 ± 1,06	22 ± 4,86	2,5 ± 0,63	0,8 ± 0,08	33,6 ± 2,95
M+ÇSSE	1208	2,4 ± 0,16	1,5 ± 0,03	17 ± 2,12	2,1 ± 0,52	0,7 ± 0,03	24,8 ± 1,94

(K_{su}: Kontrol, M: Mutagen, TSE: Taze Sarımsak Ekstraktı, TKSE: Taze Kaynatılmış Sarımsak Ekstraktı, MDSE: Mikrodalga Fırında Isıtılmış Sarımsak Ekstraktı, TZSE: Toz Halde Sarımsak Ekstraktı, KTZSE: Kaynatarak Toz Halde Sarımsak Ekstraktı, ÇSSE: Çift Santrifüjlü Taze Sarımsak Ekstraktı)

Sarımsak ekstraktı uygulamaları ile fragment oranındaki azalmalar en fazla, Taze Sarımsak Ekstraktı (M+TSE), Toz halde Sarımsak Ekstraktı (M+TZSE), ve Çift Santrifüjlü Taze Sarımsak Ekstraktı (M+ÇSSE) uygulamalarında olmuştur (Sırasıyla; %2,3, %2,4, %2,4). Kaynatarak hazırlanmış Sarımsak Ekstraktı (M+KTZSE) ve Taze Kaynatılmış Sarımsak Ekstraktı (M+TKSE) uygulamaları ise;

fragment oluşumunu azaltmada diğer uygulamalar kadar etkili olmamıştır (Çizelge 18 ve Şekil 17).



Şekil 17. 0,25ml/ml'lik sarımsak ekstraktı uygulamasında kontrol ve uygulama gruplarındaki % fragment değerleri

İstatistikî veriler, özellikle negatif kontrol ile uygulama grupları arasında gözlenen bu farklılıkların önemli olduğunu (Çizelge 19); pozitif kontrol ile uygulama grupları arasında gözlenen farklılıkların ise sadece Mutagen+Taze Sarımsak Ekstraktı (M+TSE), Mutagen + Toz halde Sarımsak Ekstraktı (M+TZSE) ve Mutagen + Çift Santrifüjlü Sarımsak Ekstraktı (M+ÇSSE) uygulamalarında önem taşıdığını da ortaya koymaktadır (Çizelge 20).

Çizelge 19. 0,25 ml/ml sarımsak ekstraktı uygulamasında negatif kontrol ve uygulama grupları arasındaki fragment değerlerinin istatistiki sonuçları

Karşılaştırma grupları	P
K _{su} -M+TSE	0,000*
K _{su} -M+TKSE	0,000*
K _{su} - M+MDSE	0,000*
K _{su} -M+TZSE	0.019*
K _{su} -M+KTZSE	0,000*
K _{su} -M+ÇSSE	0.019*

***P<0,05 olduğunda aradaki fark önemlidir**

Çizelge 20. 0,25 ml/ml sarımsak ekstraktı uygulamasında pozitif kontrol ve uygulama grupları arasındaki fragment değerlerinin istatistiki sonuçları

Karşılaştırma grupları	P
M-M+TSE	0.002*
M-M+TKSE	1
M-M+MDSE	0.388
M-M+TZSE	0.001*
M-M+KTZSE	1
M-M+ÇSSE	0.002*

***P<0,05 olduğunda aradaki fark önemlidir**

Mikroskopik incelemeler sonucunda gözlenen fragment oluşumlarının fotoğrafları Şekil 18 a ve 18 b’de yer almaktadır.



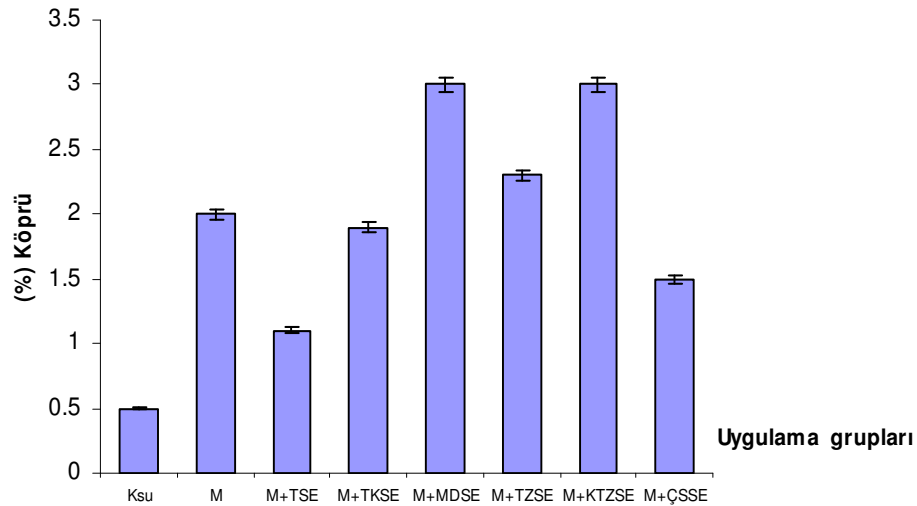
18 a



18 b

Şekil 18 a, b. Gözlenen fragment oluşumu (M.B. 10 x 100)

Denemenin ikinci kısmında da sıklıkla gözlenen bir diğer kromozom hasarı da kromatid köprüleridir. Negatif kontrolde % 0,5 olan köprü değeri, pozitif kontrolde % 2 değerine ulaşmıştır. Mutagenden sonra sarımsak ekstraktı uygulandığında, köprü oluşumunu en fazla Taze Sarımsak (M+TSE) ve Çift Santrifüjlü Sarımsak Ekstraktı (M+ÇSSE) uygulamaları azaltmıştır. Uygulanan diğer sarımsak ekstraktları köprü oranını azaltmaktan ziyade artırıcı yönde etkide bulunmuşlardır ki bu oran özellikle Mikrodalga Sarımsak Ekstraktı (M+MDSE) ve Kaynatılmış Toz haldeki Sarımsak Ekstraktı (M+KTZSE) uygulamalarında pozitif kontrol değerlerinin bile üzerinde bir köprü artışına yol açmış gibi görünmektedir (Çizelge 18 ve Şekil 19).



Şekil 19. 0,25ml/ml'lik sarımsak ekstraktı uygulamasında kontrol ve uygulama gruplarındaki % köprü değerleri

Negatif kontrol ile farklı yöntemlerle hazırlanmış sarımsak ekstraktı uygulamalarının karşılaştırılması sonucunda elde edilen istatistiki veriler, özellikle Mutagen + Mikrodalga Fırında Sarımsak Ekstraktı (M+MDSE), Mutagen + Toz halde Sarımsak Ekstraktı (M+TZSE) ve Mutagen + Kaynamış halde Toz Sarımsak Ekstraktı (M+KTZSE) uygulama gruplarında önemli olduğunu; diğer uygulama

gruplarında ortaya çıkan farklılıkların ise, önemsiz olduğunu ortaya koymaktadır (Çizelge 21).

Pozitif kontrol ile uygulama grupları arasında ortaya çıkan farklılıklar ise, istatistiki yönden önem taşımamaktadır (Çizelge 22).

Çizelge 21. 0,25 ml/ml sarımsak ekstraktı uygulamasında negatif kontrol ve uygulama grupları arasındaki köprü değerlerinin istatistiki sonuçları

Karşılaştırma grupları	P
K _{su} -M+TSE	0.999
K _{su} -M+TKSE	0.631
K _{su} - M+MDSE	0.005*
K _{su} -M+TZSE	0.012*
K _{su} -M+KTZSE	0.002*
K _{su} -M+ÇSSE	0.994

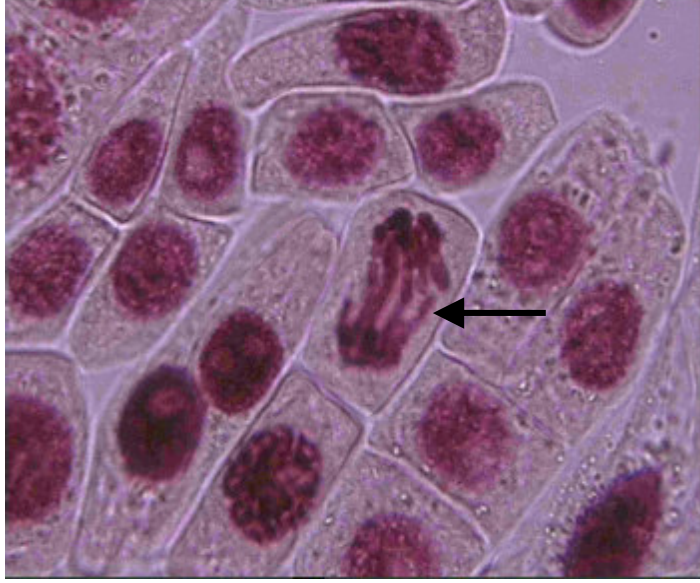
***P<0,05 olduğunda aradaki fark önemlidir**

Çizelge 22. 0,25 ml/ml sarımsak ekstraktı uygulamasında pozitif kontrol ve uygulama grupları arasındaki köprü değerlerinin istatistiki sonuçları

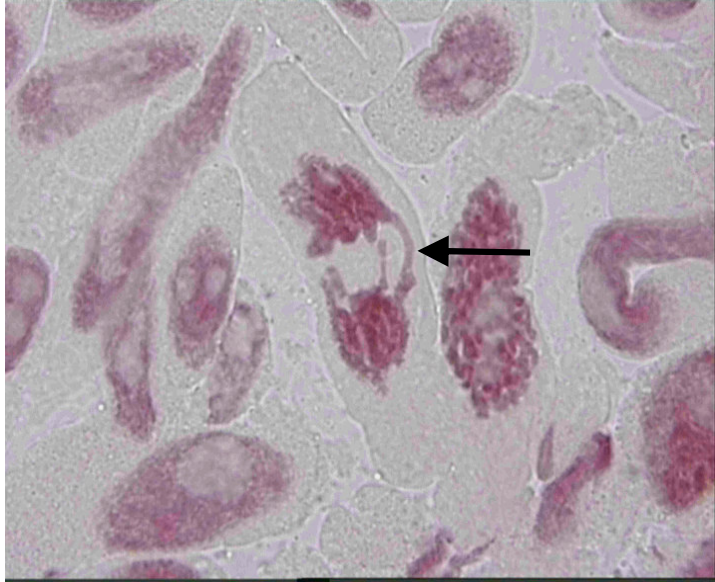
Karşılaştırma grupları	P
M-M+TSE	1
M-M+TKSE	1
M-M+MDSE	0.907
M-M+TZSE	0.97
M-M+KTZSE	0.79
M-M+ÇSSE	1

***P<0,05 olduğunda aradaki fark önemlidir**

Mikroskopik incelemeler sonucunda gözlenen köprü oluşumuna ait fotoğraf Şekil 20 a ve 20 b' de yer almaktadır.



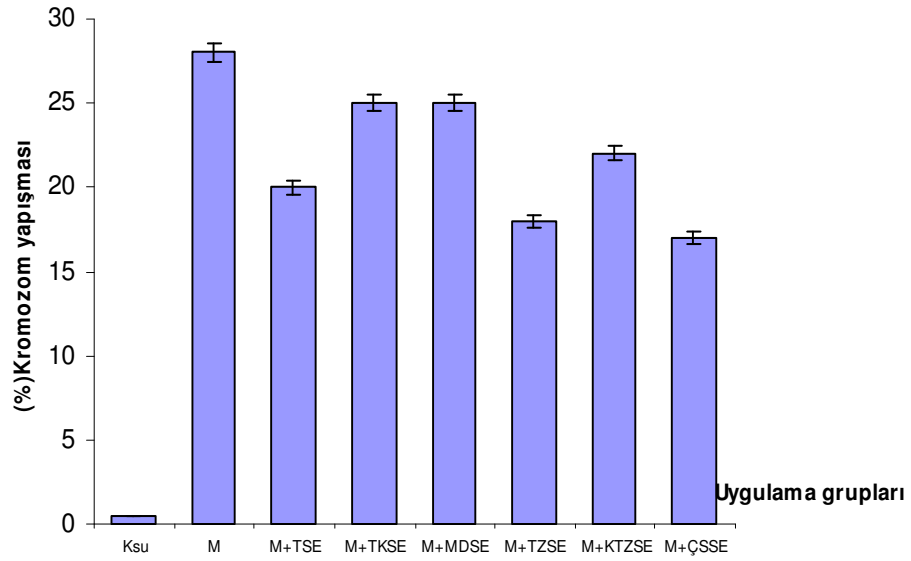
20 a



20 b

Şekil 20 a.b. Gözlenen köprü oluşumları (M.B. 10 x 100)

Mutagen muamelesinden sonra 0,25 ml/ml'lik sarımsak ekstraktı uygulanması sonucunda ortaya çıkan kromozom yapışması değerlerine bakıldığında ise; negatif kontrol grubunda % 0,5 olan kromozom yapışması değeri, pozitif kontrolde % 28'e ulaşmıştır. Mutagen muamelesinden sonra Çift Santrifüjlü Sarımsak Ekstraktı uygulaması (M+ÇSSE) ve Toz halde Sarımsak Ekstraktı uygulaması (M+TZSE) ile kromozom yapışma oranı sırası ile % 17 ve %18 seviyelerine gerilemiştir. Diğer uygulama gruplarında ise kromozom yapışmaları bir miktar azalmasına rağmen, bu azalmanın çok belirgin olmadığı da görülmektedir (Çizelge 18 ve Şekil 21).



Şekil 21. 0,25ml/ml'lik sarımsak ekstraktı uygulamasında kontrol ve uygulama gruplarındaki % kromozom yapışması değerleri

Negatif kontrol ile sarımsak ekstraktı uygulamaları arasındaki ortaya çıkan kromozom yapışmaları değerlerinin karşılaştırılması sonucunda elde edilen istatistikî veriler, negatif kontrol ile uygulama grupları arasındaki farklılıkların önemli olduğu (Çizelge 23), pozitif kontrol ile uygulama grupları arasında gözlenen farklılıkların ise; istatistiki açıdan önemli olmadığı görülmüştür (Çizelge 24).

Çizelge 23. 0,25 ml/ml sarımsak ekstraktı uygulamasında negatif kontrol ve uygulama grupları arasındaki kromozom yapışması değerlerinin istatistiki sonuçları

Karşılaştırma grupları	P
K _{su} -M+TSE	0,000*
K _{su} -M+TKSE	0,000*
K _{su} - M+MDSE	0,000*
K _{su} -M+TZSE	0,000*
K _{su} -M+KTZSE	0,000*
K _{su} -M+ÇSSE	0,000*

***P<0,05 olduğunda aradaki fark önemlidir**

Çizelge 24. 0,25 ml/ml sarımsak ekstraktı uygulamasında pozitif kontrol ve uygulama grupları arasındaki kromozom yapışması değerlerinin istatistiki sonuçları.

Karşılaştırma grupları	P
M-M+TSE	1
M-M+TKSE	1
M-M+MDSE	0.999
M-M+TZSE	0.481
M-M+KTZSE	0.551
M-M+ÇSSE	0.066

***P<0,05 olduğunda aradaki fark önemlidir**

Mikroskopik incelemeler sonucunda gözlenen kromozom yapışmalarına ait fotoğraflar Şekil 22 a ve 22 b’de yer almaktadır.



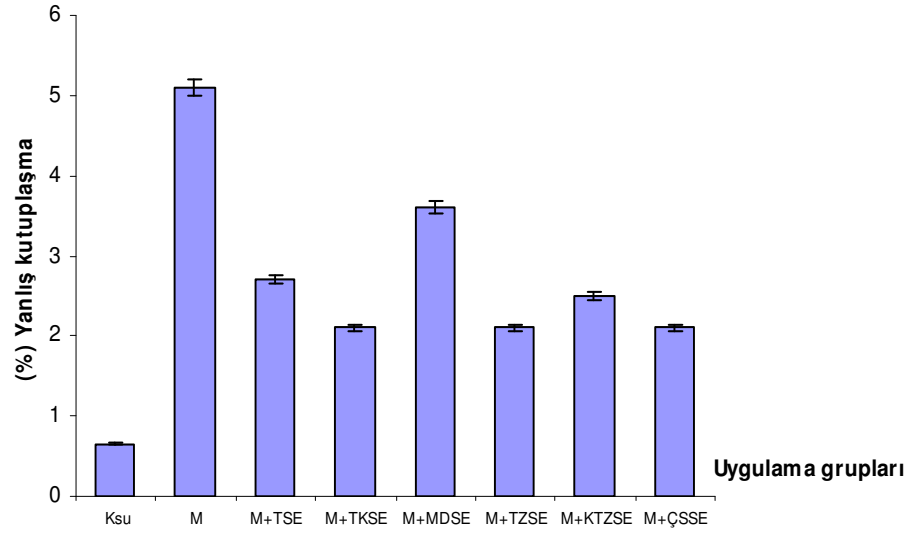
22 a



22 b

Şekil 22 a,b Gözlenen kromozom yapışmaları (M.B. 10 x 100)

Yapılan mikroskobik incelemelerde yanlış kutuplaşmalara da sıklıkla rastlanmıştır. Negatif kontrolde % 0,65 olan yanlış kutuplaşma oranı, pozitif kontrolde % 5,1'e yükselmiştir. Uygulama grupları içerisinde Mutagen+Mikrodalga (M+MDSE) uygulaması hariç (%3,6), diğer uygulamalar yanlış kutuplaşma yüzdesi üzerinde nispeten azaltıcı yönde etki yapmış gibi gözükmektedir (Çizelge 18 ve Şekil 23).



Şekil 23. 0,25ml/ml'lik sarımsak ekstraktı uygulamasında kontrol ve uygulama gruplarındaki % yanlış kutuplaşma değerleri

Negatif kontrol grubu ile sarımsak ekstraktı uygulamaları arasındaki farklılıklar istatistiki yönden karşılaştırıldığında, Taze Sarımsak Ekstraktı (M+TSE), Taze Kaynamış Sarımsak Ekstraktı (M+TKSE) ve Mikrodalga fırında Sarımsak Ekstraktı (M+MDSE) uygulama grupları arasında gözlenen farklılıkların önemli olduğu, diğer uygulama gruplarında ise istatistiki açıdan önem taşımadığı ortaya çıkmıştır (Çizelge 25). Pozitif kontrol grubu ile sarımsak ekstraktı uygulamaları arasındaki farklılıklar istatistiki yönden karşılaştırıldığında ise; Taze Kaynamış Sarımsak Ekstraktı (M+TKSE), Toz halde Sarımsak Ekstraktı (M+TZSE) ve Çift Santrifüjli Sarımsak Ekstraktı (M+ÇSSE) uygulamalarında farklılıkların önemli

olduğu, diğer uygulama gruplarında ise farklılıkların istatistiki açıdan önem taşımadığı görülmektedir (Çizelge 26)

Çizelge 25. 0,25 ml/ml sarımsak ekstraktı uygulamasında negatif kontrol ve uygulama grupları arasındaki yanlış kutuplaşma değerlerinin istatistiki sonuçları

Karşılaştırma grupları	P
K _{su} -M+TSE	0,000*
K _{su} -M+TKSE	0,000*
K _{su} - M+MDSE	0.015*
K _{su} -M+TZSE	0.681
K _{su} -M+KTZSE	0.801
K _{su} -M+ÇSSE	0.894

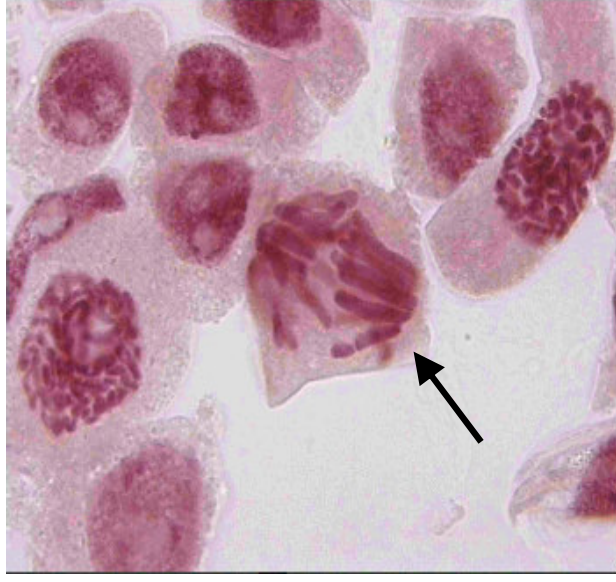
***P<0,05 olduğunda aradaki fark önemlidir**

Çizelge 26. 0,25 ml/ml sarımsak ekstraktı uygulamasında pozitif kontrol ve uygulama grupları arasındaki yanlış kutuplaşma değerlerinin istatistiki sonuçları

Karşılaştırma grupları	P
M-M+TSE	0.983
M-M+TKSE	0,004*
M-M+MDSE	0.414
M-M+TZSE	0.004*
M-M+KTZSE	0.313
M-M+ÇSSE	0.004*

***P<0,05 olduğunda aradaki fark önemlidir**

Mikroskopik incelemeler sonucunda gözlenen yanlış kutuplaşmalara ait fotoğraflar, Şekil 24 a ve 24 b’de yer almaktadır.



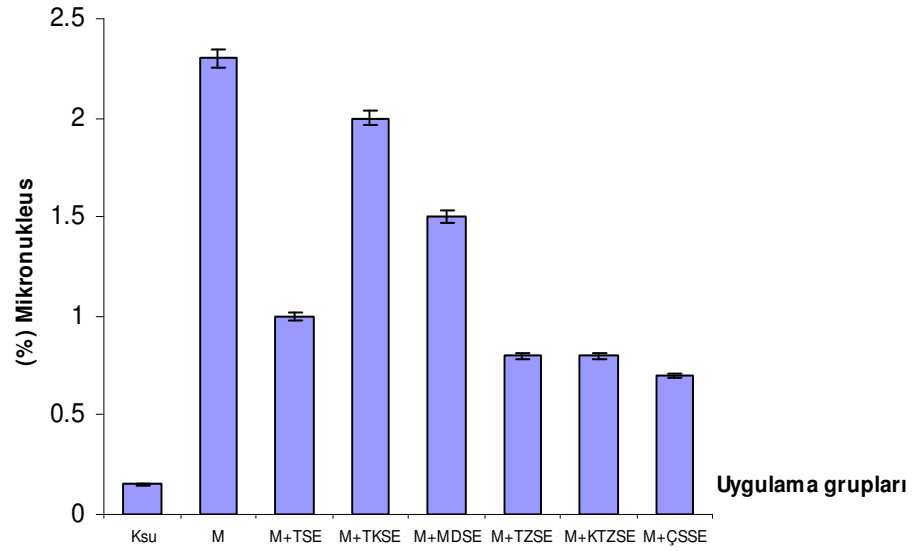
24 a



24 b

Şekil 24 a,b. Gözlenen yanlış kutuplaşma oluşumu (M.B. 10 x 100)

Denemenin ikinci aşamasında da mikronukleuslar sıklıkla gözlenen bir başka hasardır. Negatif kontrolde % 0,15 olan mikronukleus değeri, pozitif kontrolde % 2,3'e yükselmiştir. Mutagen muamelesinden sonra uygulanan Taze Kaynamış Sarımsak Ekstraktı (M+TKSE) hariç (%2), diğer tüm ekstrakt uygulamalarında mikronukleus yüzdesinde farklı oranlarda azalmalar olduğu gözlenmiştir. Mikronukleus oluşumu üzerindeki en belirgin azaltıcı etki, Mutagen+Çift Santrüfüjlü Sarımsak Ekstraktı (M+ÇSSE) uygulaması sonucunda ortaya çıkmıştır (%0,7). Durum, Çizelge 18 ve Şekil 25'den de izlenebilir.



Şekil 25. 0,25ml/ml'lik sarımsak ekstraktı uygulamasında kontrol ve uygulama gruplarındaki % mikronukleus değerleri

Negatif kontrol ile uygulama grupları arasındaki mikronukleus değerlerinde gözlenen farklılıkların ile karşılaştırılması sonucunda istatistiki analizlerden elde edilen verilere ait sonuçlar, Çizelge 27'de yer almaktadır. İstatistiki değerlendirmeler, Taze Kaynamış Sarımsak Ekstraktı (M+TKSE) ile Mikrodalga fırında Sarımsak Ekstraktı (M+MDSE) uygulamaları sonucunda mikronukleus değerlerindeki azalmaların önemli olduğunu, diğer uygulamalardaki farklılıkların ise

istatistiki açıdan önemsiz olduğunu ortaya koymuştur. Aynı değerlendirme pozitif kontrol grubu ile uygulama grupları arasında yapıldığında ise; aradaki farklılıkların Toz halde Sarımsak Ekstraktı (M+TZSE), Kaynamış Toz halde Sarımsak Ekstraktı (M+KTZSE) ve Çift Santrifüjlü Sarımsak Ekstraktı (M+ÇSSE) uygulamalarında önemli olduğu, diğer uygulama gruplarında ise farklılıkların önem taşımadığı görülmektedir (Çizelge 28).

Çizelge 27. 0,25 ml/ml sarımsak ekstraktı uygulamasında negatif kontrol ve uygulama grupları arasındaki mikronukleus değerlerinin istatistiki sonuçları

Karşılaştırma grupları	P
K _{su} -M+TSE	0.286
K _{su} -M+TKSE	0,000*
K _{su} - M+MDSE	0.02*
K _{su} -M+TZSE	0.508
K _{su} -M+KTZSE	0.986
K _{su} -M+ÇSSE	0.986

***P<0,05 olduğunda aradaki fark önemlidir**

Çizelge 28. 0,25 ml/ml sarımsak ekstraktı uygulamasında pozitif kontrol ve uygulama grupları arasındaki mikronukleus değerlerinin istatistiki sonuçları

Karşılaştırma grupları	P
M-M+TSE	0.136
M-M+TKSE	1
M-M+MDSE	0.747
M-M+TZSE	0.002*
M-M+KTZSE	0.002*
M-M+ÇSSE	0,001*

***P<0,05 olduğunda aradaki fark önemlidir**

Mikroskobik incelemeler sonucunda gözlenen mikronukleus oluşumuna ait fotoğraf, Şekil 26'da yer almaktadır.



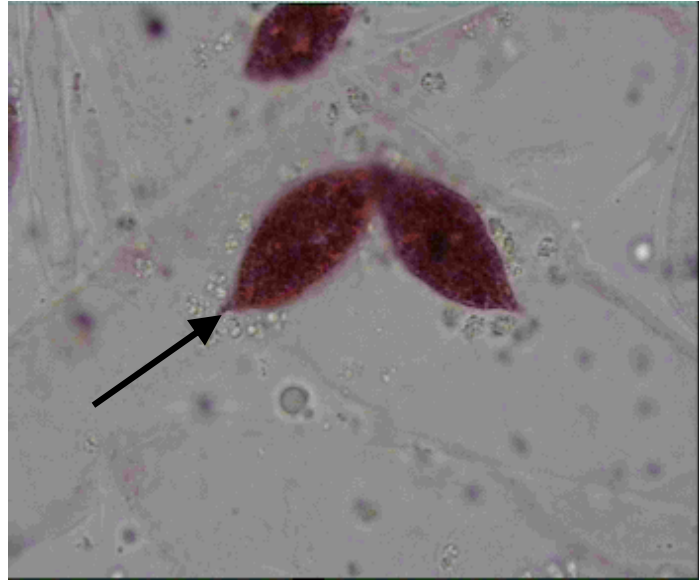
Şekil 26. Gözlenen mikronukleus oluşumu (M.B. 10 x 100)

Deneme sonucunda gözlenen bütün kromozomal hasarlar toplam olarak değerlendirildiğinde; negatif kontrolde %2,3 olan toplam kromozomal hasar değeri, pozitif kontrolde mutagenin doğası gereği beklenildiği gibi, oldukça yüksek bir değere ulaşmıştır (%43,5). Mutagenden sonra sarımsak ekstraktları uygulandığında, toplam kromozomal hasar değerlerinin azalma eğiliminde olduğu, ancak bu azalmaların yine de negatif kontrol değerlerine göre oldukça yüksek bir oranda kaldığı söylenebilir (Çizelge 18). Uygulanan bütün sarımsak ekstraktları içerisinde toplam kromozomal hasarlar üzerindeki en belirgin azaltıcı etki, Mutagen + Çift Santrifüjlü Sarımsak Ekstraktı (M+ÇSSE) uygulamasında ortaya çıkmıştır.

Denememizde yapılan mikroskobik incelemelerde az sayıda da olsa hücre çekirdeğinde normal durumdan sapmalar gösteren hücrelere de rastlanmıştır. Gözlenen bu anormal oluşumlara ait fotoğraflar Şekil 27 a, b, c, d ve e'de yer almaktadır.

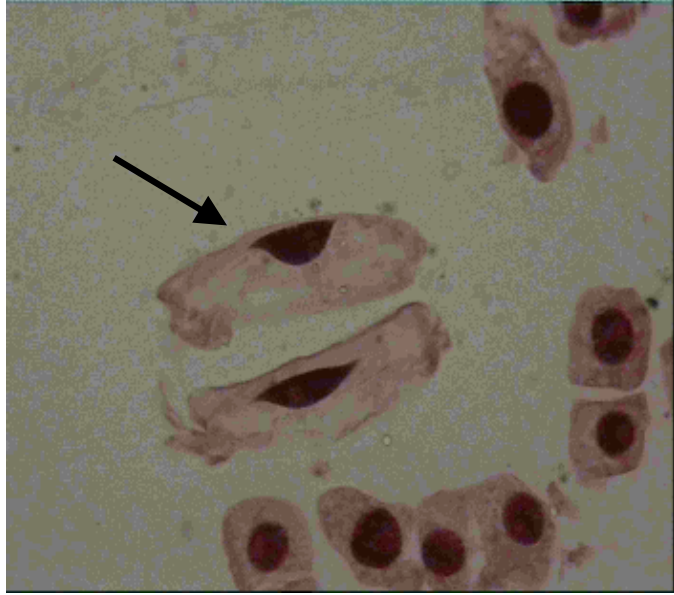


27 a



27 b

Şekil 27 a, b Gözlenen çekirdek yapı değişimleri (M.B. 10 x 100)



27 c



27 d

Şekil 27 c, d Gözlenen çekirdek yapı değişimleri (M.B. 10 x 100)

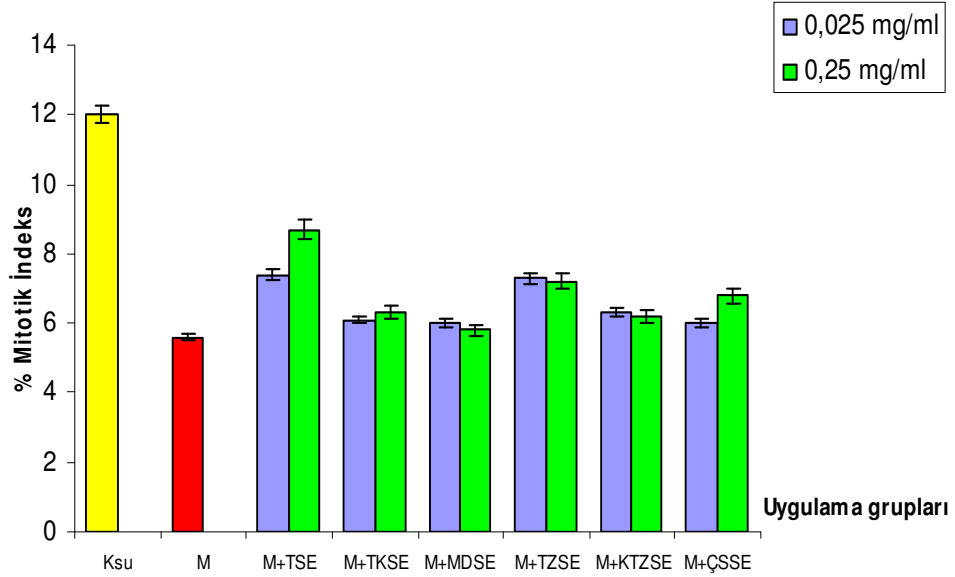


27 e

Şekil 27 e Gözlenen çekirdek yapı değişimleri (M.B. 10 x 100)

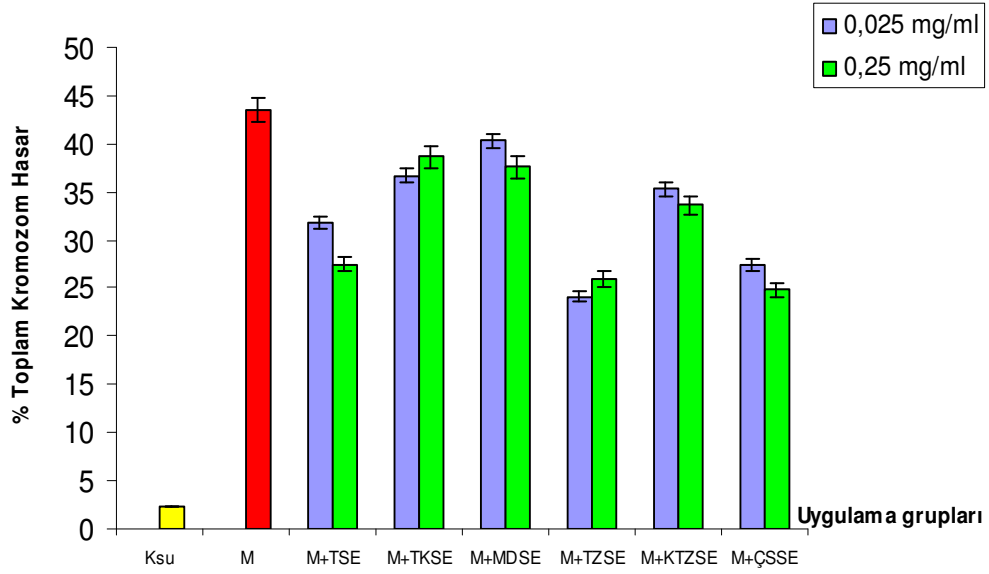
4.3. 0.025 ml/ml ve 0.25 ml/ml'lik Uygulama Konsantrasyonlarından Elde Edilen Verilerin Karşılaştırılması

Çalışmamızda farklı yöntemlerle elde edilmiş sarımsak ekstraktlarından elde edilen 0.025 ml/ml ve 0.25 ml/ml'lik uygulama konsantrasyonlarının hücre bölünmesi ve kromozomal hasarlar üzerindeki etkisini karşılaştırdığımızda; mitotik indeks değerlerinin uygulanan konsantrasyonlara göre çok fazla değişmediği, ancak gözlenen küçük değişikliklerin ise; uygulama yönteminden kaynaklandığı söylenebilir. Her iki uygulama grubunda da Mitotik İndekste gözlenen artış en fazla, Taze Sarımsak (M+TSE) ekstraktı uygulaması sonucunda ortaya çıkmıştır (0,025 ml/ml'de %7,4 ve 0,25 ml/ml'de %8,7).



Şekil 28. Kontrol grupları ile 0,025 – 0,25 ml/ml sarımsak ekstraktı uygulamaları arasındaki % Mitotik İndeks değerlerinin karşılaştırılması

Farklı yöntemlerle elde edilmiş sarımsak ekstraktlarından elde edilen 0,025 ml/ml ve 0,25 ml/ml'lik uygulama konsantrasyonlarının toplam kromozomal hasar üzerine olan etkilerini karşılaştırdığımızda ise; toplam kromozomal hasarın yine konsantrasyon değişimine bağlı olarak değil de, uygulama yöntemine göre değişiklikler gösterdiği görülmektedir (Şekil 29). Toplam kromozomal hasarın genellikle ısıtılma işlemi uygulanarak hazırlanmış ekstrakt uygulamalarında azalmayarak, pozitif kontrol değerleri civarında ortaya çıkması da dikkat çekicidir (Çizelge 14 ve Çizelge 18 ve Şekil 29).



Şekil 29. Kontrol grupları ile 0,025 – 025 ml/ml sarımsak ekstraktı uygulamaları arasındaki % toplam kromozom hasar değerlerinin karşılaştırması

Sarımsağın içeriğinde bulunan diallil sülfid, alil metil disülfid ve diallil trisülfidler, kanserojen maddelerin detoksifikasyonunu hızlandırmaktadır (Choudhury et.al 1997). Yine toz haldeki sarımsak ekstraktı uygulanması ile, DNA adductlarının oluşumlarının zayıflatılarak hayvan tümörlerinin büyümelerini engellediği de rapor edilmiştir (Song and Milner 2001).

Sulu sarımsak ekstraktlarının t-butyl hydroperoxide, cumene, hidrojen peroksit ve γ -radyasyon'unun mutagenik etkisini azalttığı (Knasmüller et al., 1989'a atfen Bianchini and Vainio, 2001), yine sarımsağın sulu ve metanol ekstraktlarının *S. typhimurium*'da aflatoksin B₁'in mutagenik aktivitesini engellediği de ortaya konmuştur (Soni et al., 1997'e atfen Bianchini and Vainio, 2001). Aşkın Çelik ve Aslantürk (2006), *Plantago lanceolata* L. sulu ekstraktının antimitotik ve antigenotoksik etkilerini Allium Test yöntemi ile araştırdıkları çalışmalarında; 15 g/l ve 30 g/l konsantrasyonlardaki *Plantago lanceolata* L. sulu ekstraktlarını %0.7'lik Hidrojen peroksitle (H₂O₂) muamele ettikleri zaman, Hidrojen Peroksitle (H₂O₂)

mitotik indeksin kontrol gruplarına göre önemli derecede azaldığını rapor etmişlerdir.

Güçlü bir mutagen olan Cyclophosphamide (CP)'in mutagenik etkinliğine karşı sarımsak ekstraktının antimutagenik etkinliği, İsviçre albino farelerinin kemik iliğinde *in vivo* kromozomal hasar testi kullanılarak araştırılmıştır. Çalışmada, intraperitoneal olarak 25 mg/kg dozda CP uygulamasından önce, farelere ağız yoluyla beş gün boyunca %1, %2,5 ve %5 oranında sarımsak ekstraktı verilmiştir. Uygulamadan 24 saat ve 48 saat sonra kemik iliği hücrelerindeki kromozomal hasarlar incelenmiştir. Sarımsak ekstraktı uygulanan gruplarda kromozomal hasarların, pozitif kontrol grubuna göre önemli derecede azaldığı, ayrıca mitotik indeksin de önemli derecede artış gösterdiği ortaya konmuştur. Araştırmacılar mitotik indeksteki artışa bağlı olarak, sarımsak ekstraktlarının antisitotoksik etkileri olduğunu da öne sürmüşlerdir (Shulka and Taneja, 2002). Ayrıca mitotik indekste görülen bu azalmanın, sarımsak ekstrakt türevlerinin hasarlı hücrelerde apoptozis mekanizmasını harekete geçirebilmesi nedeni ile olabileceği düşünülmektedir. Lu ve arkadaşları (2004), T24 insan mesane kanser hücre serisinde sarımsağın etkin bileşenlerinden olan DADS'ın (Diallyl disulfide) neden olduğu apoptozisin etki mekanizmasını araştırmışlardır. Bunun için T24 hücre serisi 24 saat kültüre edildikten sonra, kültür ortamına değişik konsantrasyonlarda (5, 10, 25, 50 ve 75 µM) DADS eklenmiş, kontrol olarak ise DADS yerine çözücü bir madde olan dimetil sülfoksit (DMSO) kullanılmıştır. 37°C'de, % 5 CO₂ içeren koşullarda hücre serilerini kültüre etmişlerdir. Sonuçta DADS ile muamele edilen gruplarla (tüm konsantrasyonlarda) kontrol arasında hücre canlılığında önemli farklılıklar olduğu gözlenmiş, başka bir deyişle DADS'ın T24 hücre serisinde apoptozisi arttırdığı rapor edilmiştir. Ayrıca 50 µM DADS konsantrasyonunda apoptoziste anlamlı bir artış olduğu bulunmuştur. DADS muamelesinin kaspaz-3 ve -9 (*caspase-3 ve -9*; özel sistein proteazları) aktivitelerini artırarak apoptozise neden olduğu sonucuna varılmıştır. DADS hücre içi Hidrojen Peroksit (H₂O₂) düzeylerini de artırmıştır. DADS'ın neden olduğu apoptozisin, geniş spektrumlu kaspaz inhibitörü (z-VAD-fmk) ve antioksidan (katalaz) tarafından inhibe edildiği de gösterilmiştir. Yine bu çalışmada DADS T24 hücrelerini hücre döngüsünü G2/M evresinde tutarak Mitoz

(M) evresine girmelerini önlemiştir. Araştırmacılar bu bulguların ışığında DADS'ın gelecekte insan mesane kanserinin tedavisinde etkili bir şekilde kullanılabileceğini ileri sürmüşlerdir.

DADS'ın HepG2 (insan hepatoma hücre serisi) hücrelerinde apoptozis üzerine olan etkilerinin incelendiği bir başka çalışmada, hücre serileri 100 µM DADS ile 24 saat kültüre edilip apoptozisi belirlemek için Hoechst 33258 boyasıyla boyanıp, floresan mikroskopla gözlemlenmiş ve DADS ile muamele edilmeyen kontrol hücre serisiyle karşılaştırılmıştır. Ayrıca hücre proliferasyonu ve canlılığı da incelenmiştir. Sonuçta, DADS'ın HepG2 hepatoma hücrelerinin üremesini inhibe ettiği gözlenmiş ve bu bulgu kısmen de olsa DADS'ın apoptotik hücre ölümünü indüklemesiyle ilişkili bulunmuştur. Bununla birlikte HepG2 hepatoma hücrelerinde, DADS'ın geçici olarak mitojenle aktive edilmiş protein kinaz (MAPK) aktivitesini arttırdığı da ortaya konmuştur. Araştırmacılar, bu kinazlar (MAPK), fosfo-p38 ve fosfo-p42/44, HepG2 hepatoma hücrelerinin apoptozisini negatif yönde düzenledikleri için, MAPK inhibitörleri ile birlikte DADS kullanımının, hepatoma için kemositotoksik değeri olabileceğini öne sürmektedirler (Wen et al., 2004).

Sarımsakta bulunan doğal bir bileşik olan ajoene'in de insan glutatyon redüktaz enziminin substratını inhibe ederek hücrede oksidatif stresi arttırdığı bildirilmiştir (Gallwitz et.al., 1999'e atfen Banerjee et.al., 2003). Ajoene insan lösemi hücrelerinde peroksit üretimini uyararak ve kappaB çekirdek faktörünü aktive ederek apoptozise neden olmaktadır. Bu da ajoene'nin antitümör etkisini kısmen açıklamaktadır (Dirsch et al.,1998'e atfen Banerjee et.al., 2003).

Taze sulu sarımsak ekstraktının, tavşan karaciğer homojenatında bir lipit peroksidasyon ürünü olan malondialdehit (MDA) oluşumunu doza bağlı olarak engellediği ortaya konmuştur (Popov et.al., 1994'e atfen Banerjee et.al.,2003). İşlenmemiş sarımsağın başlıca metabolitlerinden bir tanesi olan Allil mercaptan (AMT), triklorometil ve triklorometilperoksil serbest radikallerini yakalama yeteneğindedir (Fonelli et.al.,1998'e atfen Banejee et.al., 2003).

Bizim denememizde de mitotik indeksi arttırma (dolayısı ile hücre bölünmesini) yönündeki en belirgin etkiyi, taze ve toz halde hazırlanarak uygulanan

sarımsak ekstraktları göstermiştir. Elde ettiğimiz sonuçlar, literatür bilgilerine de uygunluk göstermektedir.

Sarımsağın suyu uzaklaştırılarak (dehidrasyon) hazırlanan sarımsak tozu içeriğinin ve allinaz aktivitesinin, taze sarımsağa eşdeğer olabileceği düşünülmektedir. Bununla birlikte dehidrasyon ısı, allinaz'ın inaktive olmaması için 60 °C'yi aşmamalıdır. Sarımsak tozunun antioksidant aktiviteye sahip olduğu ve 1,1-diphenyl-2- perylhidroksil stabil serbest radikali'nin aktivitesini azalttığı da rapor edilmiştir (Kourounakis and Rekka , 1991'e atfen Banerjee et.al., 2003).

Bekletilmiş sarımsak ekstraktı (AGE), taze sarımsağın %15-20'lik etanolde 20 ay süreyle saklanmasıyla elde edilir. Bu işlemin, allicin'in önemli ölçüde kaybolmasına ve *s*-allyl sistein (SAC), *s*-allilmercaptosistein, allixin ve selenyum gibi bazı yeni bileşiklerin artmasına neden olduğu tahmin edilmektedir. Bunlar kararlı (stabil) bileşikler olup, biyolojik ve antioksidant aktiviteleri yüksektir (Borek, 2001'e atfen Banerjee et.al., 2003). AGE, hücrede reaktif oksijen türlerini süpürerek glutasyon seviyesini azaltarak ve antioksidant enzim sistemini güçlendirerek antioksidant etkisi göstermektedir. (Geng and Lau, 1998'e atfen Banerjee et.al.,2003). Bekletilmiş sarımsak ekstraktlarında bulunan S-allilsistein (SAC) sarımsağın başlıca bileşiklerindendir ve güçlü bir antioksidant ve radikal süpürücü etkiye sahip olduğu, SAC 'ın ayrıca hücrede hidrojensiz sistemde hidrojen peroksiti (H₂O₂) süpürdüğü de gösterilmiştir (Ide and Lau, 1999'a atfen Banerjee et.al., 2003).

Bekletilmiş sarımsak ekstraktlarında son zamanlarda bulunan bir diğer antioksidant bileşik, işlenmemiş ya da ısıyla muamele edilmiş sarımsak ekstraktında bulunmayan N-alfa-(1-deoxy-D-fruktoz-1-yl)-L-arjinin'dir (İmai et.al, 2001'e atfen Banerjee et.al., 2003).

Araştırmamızda, mitotik indeks değerlerinin yanı sıra kromozomlarda meydana gelen hasar değişimleri ve mikronukleus oluşumları da incelenmiştir. Pozitif kontrol grubunda fragment, kalın kromozom, kromatid köprüleri, yanlış kutuplaşmalar, özellikle de kromozom yapışmaları ve mikronukleuslar sıklıkla gözlenen hasarlardır. Gözlenen bu hasarlar, denememizde mutagen olarak kullanılan Hidrojen Peroksit (H₂O₂)'in hidroksil radikali (OH⁻) kaynağı olarak iş görmesinden

kaynaklanmaktadır. Hidroksil radikali (OH^\cdot), üretildiği yerde hemen her molekül ile tepkimeye girebilir ve radikal tepkimelerini başlatabilir. OH^\cdot özellikle DNA'nın pürin ve pirimidin bazlarını etkileyerek mutasyonlara neden olur (Doğan ve Zaman, 1997'ye atfen, Aslantürk, 2003). Bu nedenle in vitro ve in vivo'da bu tepkimelerin kromozom hasarlarına neden olabilmesi de mümkün gözükmektedir.

Çalışmamızda farklı yöntemlerle hazırlanmış sarımsak ekstraktlarından elde edilen iki farklı konsantrasyon (0.025 ml/ml ve 0.25 ml/ml) uygulamaları sonucunda elde edilen toplam kromozomal hasar sonuçlarına baktığımızda; sarımsak ekstraktı uygulamalarında, kromozom hasarlarını önleme açısından farklılıklar olduğu ortaya çıkmıştır. Uygulanan her iki sarımsak ekstraktı konsantrasyonu da pozitif kontrolle karşılaştırdığımızda, toplam kromozomal hasarlar üzerinde genellikle azaltıcı yönde etki etmiş gibi görüneler de, iki konsantrasyon arasında çok da belirgin bir farklılık olduğu söylenemez (Çizelge 4 ve Çizelge 18; Şekil 33). Ancak yine de hasar sıklığının azalması, sarımsak ekstraktlarının antimitojenik potansiyeli olabileceğini ortaya koyması bakımından önemlidir.

Arsenik memeli hücrelerinde kromozomal hasarlara, mikronukleus oluşumuna ve kardeş kromatid değişimlerine neden olan genotoksik bir ajandır (Mass, 1992'ye atfen Choudhury et al.,1997). Choudhury ve arkadaşları (1997), sodyum arsenitin klastojenik aktivitesine karşı sarımsak ve hardal yağının antiklastojenik özelliklerini ev faresi (*Mus musculus*) kullanarak araştırmışlardır. Çalışmada sarımsak ekstraktı (100 mg/kg) ve hardal yağı (0,643mg/kg) ile beslenen farelere çalışmanın 7., 14., 21. ve 30. günlerinde sodyum arsenit enjekte edilmiştir. Son uygulamadan 24 saat sonra, öldürülen hayvanların kemik iliği hücrelerinde sodyum arsenitin neden olduğu kromozomal hasarlar incelenmiştir. Sodyum arsenitin neden olduğu kromozomal hasarların, hardal yağı ile beslenen farelerde sarımsak ekstraktı ile beslenen farelere göre daha fazla azaldığı görülmüştür. Hem hardal yağı hem de sarımsak ekstraktı ile beslenen farelerde ise, kromozomal hasar seviyesinin negatif kontrol seviyesine yakın olduğu da ortaya çıkmıştır. Bu etkinin, gıda takviyesi olarak kullanılan hardal yağı ve sarımsak ekstraktının etkileşimi ve radikal süpürücü özellikleri ile ortaya çıktığı ileri sürülmüştür.

Dört farklı sarımsak ekstraktının (taze sarımsak suyu, ısıtılmış sarımsak suyu, sarımsak tozu ve bekletilmiş sarımsak ekstraktı) farmakolojik aktiviteleri incelenmiştir. Çalışmada, sıcak su muamelesi ile sperm üretimi azaltılmış (testikular hipogonadizm), aset aldehyti detoksifiye edemeyen ve tümör hücre aşılansmış olmak üzere 3 farklı özellik taşıyan erkek fareler kullanılmıştır. Ön çalışma sonucunda denemede kullanılan taze sarımsak ekstraktı yalnızca testis fonksiyonun geri kazanılması üzerinde etkili olurken; ısıtılmış sarımsak ekstraktının her üç grupta da önemli bir etkisinin olmadığı bulunmuştur. Kullanılan sarımsak tozu spermatogenesisin normal hale dönmesinde ve asetaldehid detoksifikasyonun uyarılmasında etkili olmuştur. Bekletilmiş sarımsak ekstraktı ise, her üç grupta da etkili olmuştur. Bu sonuçlar, farklı tipteki sarımsak ekstraktlarının farklı farmakolojik etkileri olduğunu ve bu ekstraktlar içerisinde en etkili olanının da bekletilmiş sarımsak ekstraktı olduğunu ortaya çıkarmıştır (Kasuga et al., 2001).

Bizim denememizde de pozitif kontrol grubunda ortaya çıkan toplam kromozomal hasar sıklığını azaltmada gerek 0,025ml/ml ve gerekse de 0,25ml/ml sarımsak ekstraktı uygulanan bütün gruplar içerisinde, en fazla sarımsak tozu kullanılan grubun etkili olduğu (Çizelge 4, Çizelge 18 ve Şekil 30) ortaya çıkmıştır ki; bu da bizim denemizde elde ettiğimiz sonuçların literatür bilgilerine uygunluk gösterdiğini ortaya koymaktadır.

Epidemiyolojik çalışmalar sarımsak tüketimi ile kanser, kalp damar hastalıkları gibi hastalık risklerinin azalması arasında ters orantılı bir ilişki olduğunu göstermektedir (Steinmetz et.al., 1994, Kadler,1987'e atfen Banerjee et.al.,2003). Sarımsak hem antioksidant hem de oksidant özelliğe sahip çok sayıda kimyasal içerdiği için; sarımsaktan antioksidant özelliğe sahip, toksik ya da okside edici olmayan kimyasalların izolasyonu ve teşhisi önem taşımaktadır. Örneğin, sarımsak yağının geniş bir doz aralığı kullanılmaktadır ve sarımsak yağının bazı dozları kesinlikle toksiktir. Dolayısıyla herhangi bir in vivo antioksidant ya da başka etkiye (örneğin,sarımsağın antimitojenik veya antikanserogenik etkisi vb) bakılan bir çalışma yapılmadan önce sarımsağın kullanılacak bütün dozlarda güvenli olmadığını göz önüne alınması gerekmektedir (Banerjee et.al., 2003).

Alliin, allicin, gamma-glutamyl-L-cysteine, diallyl sulfide ve diallyl disulfide gibi sarımsak bileşenleri *in vitro*'da antioksidant etki göstermelerine rağmen, taze sarımsak tüketiminden sonra serumda ve idrarda bu bileşiklere rastlanmamıştır. Bu nedenle *in vitro* çalışmalardan elde edilen sonuçların *in vivo*'ya ne derece uyarlanabileceği de halen tartışma konusudur (Banerjee et.al., 2003).

5. SONUÇLAR ve ÖNERİLER

Denememizde, farklı yöntemlerle elde edilen sarımsak ekstraktlarının Hidrojen Peroksit'in (H_2O_2) oluşturduğu mutagenik etkiye karşı, antimutagenik etkinliği araştırılmıştır. Bu amaçla 6 farklı sarımsak ekstraktı (taze sarımsak, taze kaynatılmış, mikrodalga fırında ısıtılmış, toz halde, kaynatılarak toz halde ve çift santrifüjlü sarımsak ekstraktı) yanı sıra güçlü mutagen özelliği nedeni ile pozitif kontrol olarak Hidrojen Peroksit (H_2O_2) ve negatif kontrol olarak da bir gece bekletilmiş çeşme suyu kullanılmıştır.

Denemede sarımsaklardan iki farklı konsantrasyonda (0,025ml/ml ve 0,25ml/ml) olmak üzere hazırlanan ekstraktlar, mutagen ile muamele edilen bakla (*Vicia faba* L) tohumlarına uygulanmıştır.

Denemede kullanılan her iki konsantrasyon grubunda da göz önüne alınan kriterler; mitotik indeks'te meydana gelen değişimler, kromozomal hasarlar ve mikronukleus oluşumlarıdır.

Her iki uygulama grubunda da mitotik indeks değeri pozitif kontrol grubunda negatif kontrol grubuna göre önemli derecede azalma göstermiştir. Mutagen muamelesinden sonra farklı şekillerde hazırlanmış sarımsak ekstraktları uygulamaları ile, mitotik indeks değerlerinde farklı oranlarda artışlar olduğu gözlenmiştir. Mitotik indeks üzerindeki en belirgin artış; uygulanan her iki konsantrasyonda da taze ve toz halde sarımsak ekstraktı uygulamaları sonucunda olmuştur. Uygulama konsantrasyonlarını kendi aralarında karşılaştırdığımızda; uygulama konsantrasyonları ile mitotik indeks değerlerindeki artış arasında bir ilişki olduğu söylenemez. Konsantrasyon değişimi ile Mitotik İndeks değerindeki artış arasında bir ilişki kurulamazken, ortaya çıkan küçük farklılıklar konsantrasyon değişiminden çok ekstrakt hazırlama yöntemleri ile ilişkilidir denilebilir.

Her iki deneme grubunda mutagen uygulamasından sonra bölünen hücrelerde gözlenen kromozom yapı ve davranış değişikliklerinin, uygulanan sarımsak ekstraktları ile nasıl değiştiği değerlendirildiğinde ise; kromozom hasarlarının toz halde sarımsak ekstraktı ve çift santrifüjlü sarımsak ekstraktı uygulamasında diğer uygulamalara göre biraz daha azaldığı, diğer uygulamalarda ise, azalmalar olmasına

karşın, yine de bu azalmaların pozitif kontrol değerlerine yakın olduğu ortaya çıkmıştır. Özellikle ısıtma işlemi uygulanarak hazırlanan ekstraktlarda kromozomal hasarların azalmaması ve pozitif kontrol seviyesine yakın değerlerin elde edilmesi, sarımsakta kesilme ya da parçalanma sonucunda aktif hale geçen ve alliin'in allicin'e dönüşmesinden sorumlu allinaz enziminin ısıyla inaktive olması ile ilişkilendirilebilir.

Sonuç olarak denememizden elde ettiğimiz veriler, genel anlamda sarımsak ekstraktlarının mutagen muamelesi ile gerek mitotik indekste ortaya çıkan azalmaları artış yönünde etkileyerek ve gerekse kromozomlarda meydana gelen hasarları farklı oranlarda azaltarak, hasarlara karşı nisbeten iyileştirici etkide bulunduğunu göstermektedir.

Sarımsağın gıda takviyesi olarak diyetle tüketiminin özendirilmesi ve belki de önerilmesi insanları kanser ve kalp damar sistemi rahatsızlıkları gibi kronik hastalıklardan korunmada yararlı olabilecektir. Ancak, asıl sorun sarımsaktan veya sarımsak ürünlerinden elde edilen bileşiklerden hangisinin veya hangilerinin faydalı etkisinin (antioksidant, antimutagenik ve antikanserogenik vb) fazla olduğunun belirlenmesi ve bu bileşiklerin çeşitli patofizyolojik koşullarda etkin bir şekilde nasıl kullanılabileceğidir (Banerjee et.al., 2003).

Uygulanan sarımsak ekstraktlarının hangi konsantrasyon ve hangi yöntemle iyileştirici etkide bulunma nedeninin kesin olarak belirlenebilmesi için, farklı test sistemleri ve farklı konsantrasyon aralıkları kullanılarak, daha ayrıntılı çalışmalar yapılmasına gerek duyulduğu açıktır.

Sarımsak ekstraktlarının standardize edilerek in vitro ve in vivo çalışmalarla etki mekanizmalarının aydınlatılması, yan etkilerinin saptanması, kontrollü klinik çalışmalarla biyolojik faydalarının belirlenmesi, bundan sonraki çalışmaların yönünün saptanmasını sağlamada yardımcı olacaktır.

ÖZET

İnsanların yaklaşık 5000 yıldır gıda maddesi olarak kullandığı sarımsak (*Allium sativum* L.), Liliaceae familyasına ait bir bitkidir. Sarımsağın bakterisidal, hipoglisemik, antitrombotik, antiatherosklerotik, antimutagenik ve antikanserogenik etkisi olduğu ve pek çok hastalığın tedavisinde kullanıldığı bilinmektedir.

Denemede farklı yöntemlerle elde edilen sarımsak ekstraktların Hidrojen Peroksitin (H_2O_2) oluşturduğu mutagenik etkiye karşı, antimutagenik etkinliği araştırılmıştır. Bu amaçla 6 farklı sarımsak ekstraktı (taze sarımsak, taze kaynatılmış, mikrodalga fırında ısıtılmış, toz halde, kaynatılarak toz halde ve çift santrifüjlü sarımsak ekstraktı) yanı sıra güçlü mutagen özelliği nedeni ile pozitif kontrol olarak Hidrojen Peroksit (H_2O_2) ve negatif kontrol olarak da bir gece bekletilmiş çeşme suyu kullanılmıştır. Deney materyali olarak kullanılan bakla (*Vicia faba* L) tohumları, mutagen uygulamasından sonra sarımsaklardan sulu ekstraksiyon yöntemiyle hazırlanan farklı konsantrasyonlardaki (0,025 ml/ml ve 0,25 ml/ml) farklı sarımsak ekstraktları ile muamele edilmiştir. Uygulama gruplarından elde edilen veriler pozitif ve negatif kontrol verileri ile karşılaştırılmıştır.

Hidrojen Peroksit (H_2O_2) muamelesi sonucunda hücre bölünme oranında meydana gelen azalmanın sarımsak ekstraktı uygulamaları ile artış gösterdiği ve kromozomal hasar sıklığının, farklı yöntemlerle elde edilen sarımsak ekstraktları uygulamasına bağlı olarak değiştiği ortaya çıkmıştır. Uygulama grupları içerisinde taze ve toz halde sarımsak ekstraktı uygulamalarının, diğer uygulama gruplarına göre nispeten daha etkili olduğu, ısıtma işlemi uygulanan gruplarda ise bu etkinin çok belirgin olmadığı görülmüştür. Uygulanan her iki konsantrasyon karşılaştırıldığında ise bu değişimlerin, konsantrasyona bağımlı olmaktan ziyade uygulama şekli ile ilişkili olduğu bulunmuştur.

SUMMARY

Garlic (*Allium sativum* L.) which used as a food by human for 5000 years is a plant species member of Liliaceae family. It has bactericidal, hipoglicemic, antitombotic, antiatherosklerotic, antimutagenic and anticancer activity and it is used to treatments of various diseases.

In this study, the anti-mutagenic activity of the garlic extracts which prepared by different methods was investigated against the mutagenic effects of Hydrogen peroxide (H₂O₂). For this purpose, six different garlic extract were used. Hydrogen peroxide (H₂O₂) was used as positive control, because of its potential mutagenic property and one night aged tap water was used as negative control in this study. For this purpose, broad bean (*Vicia faba* L) seeds which were used as experiment material were treated with different aqueous garlic extracts in different concentrations (0.025ml/ml and 0.25ml/ml) after than mutagen treatment. Data obtained from treatment groups were compared with positive and negative controls.

Garlic extract treatments increased the dividing cell rate (mitotic index), which has been decreased after than Hydrogen peroxide (H₂O₂) treatment. Chromosomal aberration frequency was changed depending on garlic treatments. Fresh garlic extract and garlic powder extract treatments were more effective than the other garlic extracts. It was found that heated garlic extracts showed slight effects on mitotic index and chromosomal aberrations. When the two treatment concentrations of garlic extracts compared, it was found that these changes were more related with the application method than the treatment concentrations.

TEŞEKKÜR

Yüksek lisansım süresince ders ve tez danışmanlığımı yürüten, bilgisi ve tecrübesi ve gösterdiği sabır ile bana her konuda destek olan Tez Danışmanım Yrd. Doç. Dr. Sayın Tülay (AŞKIN) ÇELİK'e, bir süre önce aramızdan ayrılan Prof. Dr. Sayın Şenay SÜMER'e, tez çalışmalarım süresince katkı ve yardımlarından dolayı Araş Gör. Özlem Sultan ASLANTÜRK'e, tez çalışmalarımı sürdürmek için laboratuvar olanaklarından yararlanmamı sağlayan ADÜ Biyoloji Bölümü'ne ve tez dönemi boyunca bana her zaman destek olan eşim Hayrünisa BAŞ SERMENLİ' ye teşekkür ederim.

KAYNAKLAR

ARORA, A., K. SETH.,Y. SHUKLA. 2004. Reversal of P-glycoprotein-mediated multidrug resistance by diallyl sulfide in K562 leukemic cells and in mouse liver. **Carcinogenesis**. 25(6): 941-949

ASLANTÜRK Ö. S.2003. Likopenin Kromozom Hasarını Değiştirici Etkilerinin Araştırılması. **Adnan Menderes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi**

ASLANTÜRK, S.Ö., T. AŞKIN ÇELİK. 2005. Preventive Effects of Lycopene on Chromosome Aberrations in *Allium cepa*. **Pakistan Journal of Biological Sciences**. 8 (3): 482-486

ASLANTÜRK, S.Ö., T. AŞKIN, ÇELİK 2006. Protective Effect of Lycopene on Ethyl Methane Sulfonate induced Chromosome Aberrations in *Allium cepa*. **Caryologia**. 59(3): 220-225

AŞKIN, ÇELİK,T, O.S. ASLANTURK. 2006. Anti-mitotic and anti-genotoxic effects of *Plantago lanceolata* aqueous extract on *Allium cepa* root tip meristem cells. **Biologia**. 61 (6): (Baskıda)

AYDIN,S., A.A .BAŞARAN., N.BAŞARAN. 2004. The Protective Effects of Some Phenylethanoid Glycosides on the Mitomycin C Induced DNA Strand Breakage. **Hacettepe University, Journal of Faculty of Pharmacy**. 24(1):1-11

BANERJEE S.K., K.P. MUKHERJEE., S.K. MAULİK. 2003. Garlic as an Antioksidant: The Good, The Bad and The Ugly. **Phytotherapy Research**. 17: 97-106.

BAYTOP. T. 1999 Türkiye’de Bitkiler ile Tedavi (Geçmişte ve Bugün). **Nobel Tıp Kitabevleri**

BHATTACHARYA, A., M. KUMARM., S. GHOSAL., S.K. BHATTACHARYA. 2000. Effect of Bioactive Tannoid Principler of *Embllica officinalis* on Iron-induced Hepatic Toxicity in Rats. **Phytomedicine**. 7: 173-175.

BIANCHINI F. AND H. VAINIO. 2001. Allium Vegetables and Organasulfur Compounds: Do They Help Prevent Cancer? **Environmental Health Perspectives**. 109 (9): 893-902

BOREK C., 2001. Antioxidant Health Effects of Aged Garlic Extract **J. Nutr.****131**: 1010S-1015S

CAI,Y., Q.LUO., M. SUN., H. CORKE. 2004. Antioxidant Activity and Phenolic Compounds of 112 Traditional Chinese Medicinal Plants Associated with Anticancer. **Life Sciences**. 74: 2157-2184.

CAPECKA, E., A.MARECZEK., M.LEJA., 2004. Antioxidant Activity of Fresh and Dry Herbs of Some *Lamiaceae* Species. **Food Chemistry**. 93: 223-226.

CHOUDHURY R.,T.DAS A.SHARMA 1997. Mustard oil and extract as inhibitors of sodium arsenite-induced chromosomal breaks in vivo **Cancer Letters**. 121: 45-52

CHUNG,K.T., LU,Z., CHOU,M.W. 1998. Mechanism of Inhibition of Tannic Acid and Related Compounds on the Growth of Intestinal Bacteria. **Food and Chemical Toxicology**. 36:1053-160.

CHUNG J.G., H.F. LU., C.C. YEH., K.C. CHENG., S.S. LIN., J.H. LEE. 2004. Inhibition of *N*-acetyltransferase Activity and Gene Expression in Human

Colon Cancer Cell Lines by Diallyl Sulfide. **Food and Chemical Toxicology**. 42: 195-202

COULADIS,M., O.TZAKOU., E.VERYKOKIDOU., C. HARVALA. 2003. Screening of some Grek Aromatic Plants for Antioxidant Activity. **Phytotherapy Research**. 17: 194-195.

DEVİRİM. E. 2004. Hücre Kültürü Yöntemleri ve Çeşitli Hücre Serilerinde Sarımsak Bileşenlerinin Etkileri (Seminer). **Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı**

GALI-MUHTASIB, H.U.,YOUNES,I.H., KARCHESY, J.J., EL-SABBAN, M.E. 2001. Plant Tannins Inhibit the Induction of Aberrant Crypt Foci and Colonic Tumors by 1,2-dimethylhydrazine in Mice. **Nutrition Cancer**. 39: 108-116.

ISHIKAWA,K.,R.NAGANAWA.,H.YOSHIDA.,N.IWATA.,H.FUKUDA.,T. FUJINO.,A.SUZUKI. 1996. Antimutagenic effects of ajoene, an organosulfur compound derived from garlic. **Biosci. Biotechnol. Biochem**. 60(12):2086-2088

KANAYA N., B.S.GILL, I.S.GROVER, A.MURIN, R. OSIECKA, S.S.SANDHU., H.C. ANDERSSON. 1994. *Vicia faba* Chromosomal Aberration Assay. **Mutation Research**. 310: 231-247.

KASUGA S., N. UDA, E. KYO, M. USHİJİMA, N. MORIHARA., Y. ITAKURA 2001. Pharmacologic Activities of Aged Garlic Extract in Comparison with Other Garlic Preparations. **J.Nutr**.131:1080S-1084S

LIN,C.C., Y.F.HSU., T.C. LIN., H.Y.HSU. 2001. Antioxidant and Hepatoprotective Effects of Punicalagin and Punicalin on Acetaminophen-induced Liver Damage in Rats. **Phytotherapy Research**. 15: 206-121.

LU H.F., C.C SUE, C.S .YU, S.C. CHEN, G.W. CHEN, J.G. CHUNG. 2004. Diallyl disulfide (DADS) Induced Apoptosis Undergo Caspase-3 Activity in Human Bladder Cancer T24 Cells. **Food Chem Toxicol**; **42**; 1543-1552

MERCAN. U, 2004. Toksikolojide Serbest Radikallerin Önemi, **YYU Vet. Fak. Derg.** 15 (1-2): 91-96

MOSADDIK, M.A. 2003. in vitro Cytotoxicity of Tanshinones Isolated from *Salvia miltiorrhiza* Bunge Against P388 Lymphocytic Leukemia Cells. **Phytomedicine**. 10:682-685.

NAGAKAWA,T., T.YOKOZAWA. 2002. Direct Scavenging of Nitric Oxide and Superoxide by Gren Tea. **Food and Chemical Toxicology**. 40: 1745-1750.

OOMMEN S., R. J. ANTO, G. SRINIVAS, D. KARUNAGARAN. 2004 Allicin (from Garlic) Induces Caspase-Mediated Apoptosis in Cancer Cells **European Journal of Pharmacology**. 485: 97– 103

PANOVSKA,T.K., KULEVANOVA,S., STEFOVA,M., 2005. In vitro Activity of Some *Teucrium* Species (*Lamiaceae*). **Acta Pharm.** 55, 207-214.

PILLIA G. R., 2004. Induction of Apoptosis in Human Lung Cancer Cells by Curcumin. **Cancer Letters**. 208: 163-170

PINTO J. T. AND R.S. RIVLIN 2001. Antiproliferative Effects of Allium Derivatives from Garlic. **J.Nutr.**131: 1058S-1060S

SAKAR M.K., M. TANKER 1991. Fitokimyasal Analizler.Tanım, Miktar Tayini ve İzolasyon. Ankara.

SHULKA Y., P. TANEJA. 2002. Antimutagenic Effects of Garlic Extract on Chromosomal Aberrations. **Cancer Letters**. 176: 31–36

SINGH A.,Y. SHULKA. 1998. Antitumour Activity of Diallyl Sulfide on Polycyclic Aromatic Hydrocarbon-induced Mouse Skin Carcinogenesis. **Cancer Letters**. 131:209-214

SONG K., J.A.MILNER. 2001. The Influence of Heating on the Anticancer Properties of Garlic. **J. Nutr.** 131: 1054S-1057S.

VELİOĞLU, Y.S., G. MAZZA., L.GAO., B.D. OOMACH. 1998. Antioxidant activity and total Phenolics in Selected Fruits, Vegetables and Grain Products. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. 46: 20-24.

WEN J, Y. ZHANG, X. CHEN, L. SHEN, G.C. LI., M. XU 2004. Enhancement of Diallyl Disulfide-Induced Apoptosis by Inhibitors of MAPKs in Human HepG2 Hepatoma Cells. **Biochem. Pharmacol.** 6: 323–331

YIN M., W. CHENG. 2003. Antioxidant and Antimicrobial Effect of Four Garlic-Derived Organosulfur Compounds in Ground Beef. **Meat Science**. 63: 23–28

ZHANG Y.S., X.R. CHEN, Y.N. YU. 1989. Antimutagenic Effect of Garlic (*Allium sativum* L) on 4NQO-Induced Mutagenesis in Escherichia coli WP2. **Mutat. Res.** 227(4):215-219

Ek Kaynaklar

Antioxidants and Free Radicals

<http://www.rice.edu/~jenky/sports/antiox.html>

Kemper, K.J. 2000.

<http://www.mcp.edu/herbal/default.ht>

ÖZGEÇMİŞ

1978 yılında Mersin’de doğdu. İlk, orta ve lise öğrenimini İskenderun’da tamamladı. 1995 yılında İskenderun Lisesi’nden mezun oldu. 1996 yılında Muğla Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü’nde lisans öğrenimine başladı. 2001 yılında mezun oldu. Aynı yıl Muğla Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Eğitimi Anabilim Dalı’nda tezsiz yüksek lisansa başladı. 2003 yılında bu bölümden mezun oldu. 2002 yılında Adnan Menderes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalında Yüksek Lisans eğitime başladı. Halen Aviva Hayat ve Emeklilik’te Finansal Danışman olarak çalışmaktadır.