

***MONOSODYUM GLUTAMAT (MSG)' IN İNSAN PERİFERAL
LENFOSİTLERİNDE KARDEŞ KROMATİD DEĞİŞİMİ ÜZERİNDEKİ ETKİLERİ ***

*Effects Of Monosodium glutamate (MSG) On Sister Chromatid Exchange in
Human Peripheral Lymphocytes*

Tuba CANITEZER
Genel Biyoloji Anabilim Dalı

Mehmet TOPAKTAŞ
Biyoteknoloji Anabilim Dalı

ÖZET

Bu çalışmada gıdalarda tat arttırıcı olarak kullanılan monosodyum glutamat (MSG)'in genotoksik etkiye sahip olup olmadığı insan periferal kan lenfositlerinde *in vitro* kardeş kromatid değişimi (KKD) testi ile araştırılmıştır. Hücreler 24 ve 48 saat süre boyunca 3000, 4000 ve 5000 µg/ml monosodyum glutamat (MSG) ile muamele edilmiştir.

Monosodyum glutamat (MSG), insan periferal kan lenfositlerinde 24 saatlik muamele süresinde KKD'yi uyarmamıştır. 48 saatlik muamele süresinde sadece en düşük dozda (3000 µg/ml) KKD'yi kontrole oranla istatistiksel olarak önemli derecede uyarmıştır. MSG, PI'yi tüm konsantrasyonlarda ve muamele sürelerinde düşürmüştür ancak bu düşüş kontrole oranla önemli bulunmamıştır.

Anahtar Kelimeler: Monosodyum glutamat (MSG), İnsan Periferal Kan Lenfosit, Kardeş Kromatid Değişimi (KKD), Proliferasyon İndeksi (PI).

ABSTRACT

The present research is aimed to study of genotoxic effects of monosodium glutamate (MSG), which used as a flavor enhancer in foods, on human peripheral blood lymphocytes by *in vitro* sister chromatid exchange (SCE) test. The cells were treated with 3000, 4000 and 5000 µg/ml monosodium glutamate (MSG) for 24 and 48 hours. MSG did not induce SCEs in human peripheral blood lymphocytes in 24-h and treatment period. But MSG induced SCEs only in the lowest dose in 48-h (3000 µg/ml) treatment.

MSG decreased PI in all concentrations and in all treatment periods, but did not significant when compared to control.

Key words: Monosodium glutamate (MSG), Human Peripheral Blood Lymphocytes, Sister Chromatid Exchange (SCE), Proliferation Index (PI).

GİRİŞ

Gıda katkı maddeleri tek başına gıda olarak tüketilmeyen veya gıda ham veya yardımcı maddesi olarak kullanılmayan, tek başına besleyici değeri olan veya olmayan, seçilen teknoloji gereği kullanılan işlem veya imalat sırasında kalıntı veya

* Yüksek Lisans Tezi-MSc. Thesis

türevleri mamul maddede bulunabilen, gıdanın hazırlanması, ayırımı, işlenmesi, ambalajlanması, taşınması, depolanması ve dağıtım sırasında gıda maddesinin tat, koku, görünüş, yapı ve diğer niteliklerini korumak, düzeltmek veya istenmeyen değişikliklere engel olmak amacıyla kullanılmasına izin verilen maddelerdir.

19. yüzyıldaki hızlı şehirleşmenin paralelinde katkı maddelerinin kullanımları, özellikle gıdaları bozulmalara karşı koruma amacıyla yaygınlaşmış olup günümüzde ise bu maddeler gelişen gıda teknolojisinin vazgeçilmez parçasını oluşturmuşlardır (Altuğ, 1999). Gıda katkı maddelerinin dünyadaki pazarı 1900'lü yıllarda 10 milyar dolara ulaşmış olup, günümüzde çok daha büyük rakamlarla ifade edilmektedir (Altuğ, 2001).

Ülkemizde yaklaşık 300 adet gıda katkı maddesinin kullanımına izin verilmekte olup Amerika Birleşik Devletleri'nde bu sayı yaklaşık 2800'dür (Özkaya, 2004). Bu maddelerin tüketimi arttıkça, bazı rahatsızlıklarla olan bağlantılara yönelik bulgular da ortaya çıkmaya başlamıştır. Bunların içinde en sıkça görülenleri; egzema, astım, baş ağrısı, alerjik kaşıntılar, gastrik rahatsızlıklar, özellikle çocuklarda olmak üzere ishal, hiperaktiflik ve aşırı duyarlılık (hypersensitivity)'tır (Güneşli 2000; Hill ve Belsito, 2003; Breiteneder, 2004; Hegde ve Venkatesh, 2004; Koskela ve ark., 2004).

Gıda katkı maddelerinden tat arttırıcılar, özellikle proteince zengin hayvansal ve bitkisel gıda ürünlerinde kullanılır. En çok et ve balık ihtiva eden dondurulmuş gıdalar, kuru karışım halindeki bütün hazır çorbalar ve çoğu konserve gıdalarda kullanılmaktadır. Ayrıca salata sosları, sucuk, salam, sosis ve patates cipslerinde de lezzet arttırıcı olarak kullanılmaktadır.

Tatlandırıcı ve tat arttırıcılar ile yapılan birçok genotoksisite ve sitotoksisite çalışmaları vardır. Bu çalışmalardan elde edilen sonuçların bazıları şunlardır:

Rencüzoğulları ve ark. (2004), 500, 1000 ve 2000 µg/ml aspartam ile 24 ve 48 saat muamele edilen insan periferik lenfositlerinde aspartam'ın KKD oluşumunu indüklediğini fakat KA ve MN sayısını arttırdığını ve sitotoksik bir etkiye sahip olduğunu belirlemişlerdir. Aynı araştırmacılar 50-2000 µg/petri dozlarında aspartam'ın *Salmonella typhimurium* TA98 ve TA100 suşlarında mutajenik etki göstermediğini saptamışlardır. Takizawa ve Hachiya (1984), maltitol'ün *Salmonella typhimurium* TA98, TA100, TA1535, TA1537, TA1538 ve *Escherichia coli* WP2/Pkm101'de mutajeniteye sebep olmadığını ve fare kemik iliğinde ise MN oluşumunu indüklediğini bildirmişlerdir. Canımoğlu ve Rencüzoğulları (2006), maltitol'ün insan periferik lenfositlerinde KKD sayısını arttırmadığını ve KA sayısını da istatistiksel bakımından önemsiz derecede arttırdığını fakat MN oluşumunu doza bağlı olarak indüklediğini göstermişlerdir.

Wolff ve Rodin (1978), sodyum sakkarin'in insan lenfositleri ve Chinese hamster ovary (CHO) hücrelerinde kardeş kromatid değişimini (KKD) indüklediğini ve farelerde mesane kanserine sebep olduğunu dolayısıyla hem kanserojenik hem de mutajenik etkiye sahip olduğunu bildirmişlerdir. Renner (1979), Chinese hamster kemik iliği hücrelerinde sakkarin'in KKD'yi indüklediğini bildirmiştir.

Gıdalara tat arttırıcı olarak ilave edilen maddelerden biride monosodyum glutamat (MSG)'tır.

Olney (1969), MSG'nin deri altı enjeksiyonunun yetişkin sıçanların beyinde akut lezyonlara yol açtığını ve büyüme hormonu, eşey hormonu ve tiroid hormonlarının seviyesinde değişikliklere sebep olduğunu bildirmiştir.

Kemirgen ve memeli yavrularına ağızdan ve cilt altından monosodyum glutamat verildiğinde gelişmekte olan beyin dokusu, hipotalamus ve hipokampusta akut nöronal nekroza yol açtığı ve sıçan yavrularının retinasında hasarlar meydana getirdiği belirtilmiştir (Olney ve ark., 1970; Kubo ve ark., 1993). Sıçanlarda MSG'nin vücuda alınımı üzerine yapılan çalışmalarda MSG'nin vücuttaki enerji miktarını arttırarak obeziteye sebep olduğu (Bergen ve ark., 1998; Mozes ve ark., 2004) ve aynı zamanda vücuttaki karbonhidrat, lipid ve protein seviyesini değiştirdiği bildirilmiştir (Walker ve Lupien, 2000).

Aji (1998) monosodyum glutamat içeren besinlerin tüketilmesinden sonra besin zehirlenmelerinin ortaya çıktığını bildirmiştir.

Çeşitli araştırmacılar tarafından baş ağrısının sebeplerini ortaya çıkarmak amacıyla yapılan çalışmalarda monosodyum glutamat içeren yiyeceklerin migren atağını ortaya çıkaran faktörlerden biri olduğu bildirilmiştir (Özbenli, 1994; Öner ve ark., 2003). Bir çalışmada MSG'nin yüksek dozlarının nöroendokrin anormalliklerine (Moreno ve ark. 2005), nörodejenerasyon ve nörotoksositeye (Chaparro-Huerta ve ark. 2002) ve farklı organlarda oksidatif zarara (Farmobi ve Onyema 2006; Pavlovic ve ark. 2007) yol açtığı saptanmıştır.

Pavlovic ve ark. (2007), erkek Wistar sıçanlar üzerinde yaptığı çalışmalarda MSG ile muamelenin timuslarda oksidatif stresi uyardığını ve MSG ile bu uyarılmanın T- hücrelerinin apoptozisini de önemli derecede ($p < 0.01$) arttırdığını göstermişlerdir. ZHANG ve ark. (2010), dişi fareler üzerinde yaptığı çalışmalarda monosodyum glutamat ile uyarılan obez farelerde insülin dirençliliğinin geliştiğini göstermişlerdir.

Görüldüğü gibi yukarıdaki çalışmalarda monosodyum glutamat (MSG)'in çeşitli canlılarda birtakım hastalıklara neden olduğu belirtilmiştir. Ancak bugüne kadar MSG'nin insan periferik lenfositlerinde in vitro genotoksik etkilerinin belirlenmesi üzerine herhangi bir çalışma yapılmamıştır. İşte bu çalışmanın amacı MSG'nin genotoksik olup olmadığını insan periferik lenfositlerinde kardeş kromatid değişim (KKD) testiyle araştırmaktır.

MATERYAL VE METOT

Materyal

Bu çalışmada test maddesi olarak gıda katkı maddelerinin tat arttırıcı grubunda olan monosodyum glutamat (MSG), materyal olarak da sigara içmeyen yaşları birbirine yakın sağlıklı iki erkek (21 ve 23 yaşlarında) ve iki bayandan (21 ve 23 yaşlarında) alınan periferik kan kullanılmıştır.

Metot

Bu çalışmada KKD saptamak amacıyla 1/10 heparinize edilmiş periferik kanın 0.2 ml'si steril şartlarda 2.5 ml kromozom medyumuna (BP max, Gibco, cat.no.12552-013) ilave edilmiştir (Rencüzoğulları ve Topaktaş, 1991). Kanın

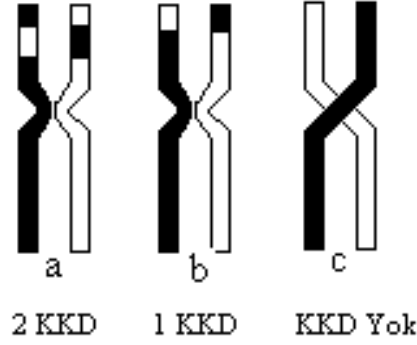
ilavesinden hemen sonra son konsantrasyonu 10 µg BrdUrd/ml olacak şekilde steril 5- bromo-2-deoksiuridin (BrdUrd) eriyiği ilave edilerek periferik kan lenfositleri 37°C'deki inkübatörde 72 saat inkübe edilmiştir. Ön çalışma sonucu belirlenen konsantrasyondaki (3 konsantrasyonda) (3000, 4000 ve 5000µg/ml) test maddesi kültür ortamına kültürün başlangıcından 24 ve 48 saat sonra ilave edilmiş ve hücrelerin test maddesiyle 24 ve 48 saat boyunca muamele edilmeleri sağlanmıştır. Ayrıca her deneyin bir kontrolü ve bir de pozitif kontrolü (0.15 µg/ml mitomycin C: MMC) olmuştur. Kültür süresinin bitiminden 2 saat önce her tüpe kolşisin eriyiğinden (0.06 µg/ml) ilave edilerek karıştırılmış ve hücreler 2 saat süre ile (37°C'de) kolşisin ile ön muameleye tabi tutulmuştur. Kültür süresi olan 72. saatin bitiminde kültür tüpleri 1200 devir/dk. (rpm)'da 10 dk. santrifüj edilerek, süpernatant atılmıştır. Dipte kalan ve hücreleri ihtiva eden 0.5-0.7 ml'lik sıvı içerisindeki hücreler resüspanse edildikten sonra 37°C'lik hipotonik eriyik (% 0.4'lük KCl) ilave edilerek 37°C' de 10 dk. süre ile muamele edilmişlerdir. Sürenin sonunda tüpler 15 dk. 1200 devir/dk.'da santrifüj edilerek, tüpün üstündeki süpernatant alınmış ve tüpün dibinde kalan 0.5-0.7 ml sıvı içerisinde tekrar resüspanse edilen hücreler üzerine damla damla soğuk fiksatif (1 hacim glacial asetik asit / 3 hacim metanol) ilave edilmiştir. Oda sıcaklığında 20 dk. fiksatif ile muamele edilen hücreler 1200 devir/dk.' da 15 dk. santrifüj edilerek süpernatant alınmıştır. Bu fiksatifle muamelesi 3 defa tekrarlanmıştır. Son santrifüjden sonra dipte 0.5-0.7 ml sıvı kalacak şekilde süpernatant atıldıktan sonra pastör pipeti ile homojen hale getirilen hücre süspansiyonundan önceden temizlenmiş ve saf su içerisinde buzdolabında saklanmış olan lamaların üzerine 75 cm yükseklikten 3-4 damla damlatılmıştır. Böylece hücrelerin ve dolayısıyla kromozomların lam üzerinde yayılması sağlanmıştır. Bu şekilde hazırlanan preparatlar kurumak üzere 24 saat oda sıcaklığında bekletildikten sonra Speit ve Haupter (1985)'in geliştirdikleri metod (Fluoresans Plus Giemsa= FPG) kullanılarak bir kromozoma ait kardeş kromatidlerin farklı boyanması sağlanmıştır. Hazırlanmış olan daimi preparatlar Olympus marka binoküler ışık mikroskopunda immersiyon objektifi ile incelenmiştir (10x100=1000 büyütmede).

KKD sayısı, her kişinin kan kültürüne ait preparatlardan iyi dağılmış ve ikinci mitozu geçiren 25 hücrede (4 kişiden toplam 100 hücrede) saptanmıştır. KKD sayısı bir kromozomun açık boyanmış kromatidindeki koyu boyanmış parçaların veya koyu boyanmış kromatidindeki açık boyanmış parçaların sayılmasıyla belirlenmiştir (Topaktaş ve Speit, 1990). Ortadan bir parça değişimi olmuş ise bu iki KKD olarak değerlendirilmiş (şekil 1. a), uçtan parça değişimi olmuş ise bu da bir KKD olarak sayılmıştır (şekil 1. b). Ancak bu incelemeler esnasında kromatidlerin primer boğum bölgelerinden dönüm yapıp yapmadıklarına dikkat etmek gerekir. Bu durumdaki kromozomlarda KKD yoktur (şekil 1. c).

Monosodyum glutamat'ın DNA replikasyonu üzerindeki etkilerini saptamak amacı ile proliferasyon indeksi (PI) bulunmuştur. Bunun için tesadüfi seçilmiş alanlarda 100 hücre incelenmiştir. Bu incelemeler sırasında gözlenen birinci, ikinci ve üçüncü metafaz devresindeki hücrelerin sayısı saptanmış ve bu verilerden faydalanılarak PI şu şekilde hesaplanmıştır;

$$PI = (1 \times M1 + 2 \times M2 + 3 \times M3) / 100$$

$M1$: 1. Mitozdaki hücre sayısı
 $M2$: 2. Mitozdaki hücre sayısı
 $M3$: 3. Mitozdaki hücre sayısı



Şekil 1. Kardeş kromatid değişiminin olduğu ve olmadığı durumun şematik olarak gösterilmesi (Topaktaş ve Speit, 1990).

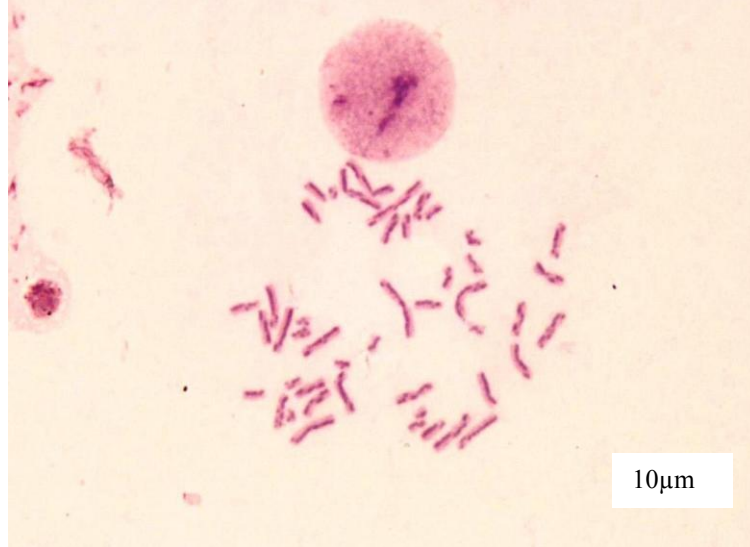
Muameleli kültürlerden elde edilen KKD / hücre ve PI değerleri ile kontrol ve pozitif kontrolde elde edilen değerlerin arasındaki farkın önemli olup olmadığı t -testi ile araştırılmıştır.

BULGULAR VE TARTIŞMA

Bulgular

Üç farklı konsantrasyondaki MSG (3000, 4000 ve 5000 µg/ml) ile 24 ve 48 saat muamele edilen insan periferik lenfositlerinde saptanan ortalama kardeş kromatid sayıları (KKD/Hücre) çizelge 1.'de gösterilmektedir. MSG'nin, 24 saatlik muamele sürelerinde KKD sayısı genel olarak artış göstermiş ancak bu artış kontrole oranla istatistiksel açıdan önemli bulunmamıştır. Ancak 48 saatlik muamele süresinde ise MSG sadece en düşük (3000 µg/ml) dozda KKD sayısını kontrole oranla istatistiksel açıdan önemli ölçüde arttırmıştır. MSG'nin KKD'yi uyardırmasına karşılık MMC önemli derecede KKD'yi uyardırıştır (Çizelge 1. Şekil 2.).

MSG, DNA replikasyonunda etkisi, proliferasyon indeksi (PI) (replikasyon indeksi=RI)'nin saptanmasıyla belirlenmiştir (çizelge 2). MSG 24 ve 48 saatlik muamele sürelerinde PI'yi genel olarak düşürmesine rağmen bu düşüşün kontrole oranla önemli olmadığı bulunmuştur.



Şekil 2. 78 kardeş kromatid değişimi bulunan metafaz plağı (0.15µg/ml MMC, 48 saatlik muamele, ♂). X1000.

Çizelge 1.Farklı Dozlarda Monosodyum Glutamat (MSG) ile 24 ve 48 Saat Muamele Edilen İnsan Periferel Kan Lenfositlerinde Hücre Başına Düşen Ortalama KKD (SCE) Sayısı.

Test Maddesi	Muamele Süresi (saat)	Kons. (µg/ml)	Min-Max KKD	KKD/Hücre±SH
Kontrol	--	--	1-17	5.260 ± 0.432
MMC (PK)*	24	0.15	23-72	43.98 ± 2.060 a ₃
MSG	24	3000	0-27	6.510 ± 0.294 b ₃
		4000	1-19	6.840 ± 0.590 b ₃
		5000	1-15	6.120 ± 0.444 b ₃
MMC (PK)**	48	0.15	49-120	72.58 ± 3.810 a₃
MSG	48	3000	1-28	7.390 ± 0.369 a ₁ b ₃
		4000	1-26	6.900 ± 0.619 b ₃
		5000	1-15	6.640 ± 0.360 b ₃

a: Kontrol ile; b: Pozitif Kontrol ile aradaki fark önemlidir.

a₁b₁: P≤0.05 a₂b₂: P≤0.01 a₃b₃: P≤0.001

*86 hücre incelenmiştir.

Çizelge 2. Farklı dozlarda Monosodyum Glutamat (MSG) ile 24 ve 48 saat muamele edilen insan periferik lenfositlerinde proliferasyon indeksi (PI)

Test maddesi	Muamele süresi (saat)	Kons. ($\mu\text{g/ml}$)	MI	MII	MIII	PI \pm SH
Kontrol	--	--	88	157	155	2.248 \pm 0.032
MMC (PK)	24	0.15	196	158	46	1.630 \pm 0.030 a ₁
MSG	24	3000	79	179	142	2.158 \pm 0.092 b ₁
		4000	86	178	136	2.125 \pm 0.056 b ₂
		5000	93	166	141	2.120 \pm 0.047 a ₂
MMC (PK)	48	0.15	287	99	14	1.310 \pm 0.016 a ₃
MSG	48	3000	122	163	115	1.983 \pm 0.054 b ₃
		4000	89	173	138	2.123 \pm 0.035 b ₃
		5000	112	177	111	1.998 \pm 0.042 b ₃

a: Kontrol ile; b: Pozitif Kontrol ile aradaki fark önemlidir
a₁b₁ : P \leq 0.05 a₂b₂ : P \leq 0.01 a₃b₃ : P \leq 0.001

Tartışma

Bu çalışmada, Monosodyum glutamat (MSG)'in insan periferik lenfositlerinde 24 saatlik muamele süresinde KKD'yi uyarmadığı ancak 48 saatlik muamele süresinde ise sadece en düşük dozda (3000 $\mu\text{g/ml}$) KKD'yi uyardığı saptanmıştır.

Bu çalışmada test maddesi olarak kullanılan MSG'nin genotoksitesini araştıran herhangi bir KKD çalışması bugüne kadar yapılmamıştır. Ancak farklı gıda maddesi grubuna ait olan tatlandırıcılarla yapılan çalışmalar şu şekildedir: Rencüzoğulları ve ark. (2004) tatlandırıcı grubunda yer alan aspartam ile yaptıkları çalışmada aspartam'ın insan periferik kan lenfositlerinde KKD'yi uyarmadığını açıklamışlardır. Yine Canımoğlu ve Rencüzoğulları (2006), maltitol'ün insan periferik kan lenfositlerinde KKD sayısını uyarmadığını açıklamışlardır. Bu sonuçlar bizim çalışmamızın sonuçlarını destekler yöndedir.

Yapılan çalışmada MSG'nin PI'da herhangi bir düşüşe neden olmadığı saptanmıştır. Canımoğlu (2009), bir tatlandırıcı olan maltitol'ün sıçan kemik iliği hücrelerinde MI'yı etkilemediğini saptamıştır. Jemison ve ark. (1984) insan periferik lenfositlerinde siklamat'ın hücreleri bölünmeye teşvik ederek MI'yı arttırdığını bildirmişlerdir. Bu sonuçlar bizim çalışmamızın sonuçları ile uygunluk göstermektedir. Halbuki Rencüzoğulları ve ark. (2004), yine bir tatlandırıcı olan aspartam'ın insan periferik lenfositlerinde 48 saatlik en yüksek dozda PI'yı, 24 saatlik en yüksek iki doz ile 48 saatlik tüm dozlarda da MI'yı önemli derecede düşürdüğünü bildirmişlerdir. Bu araştırmacıların sonuçlarının bizim çalışmamızın

sonuçlarından farklı olmasının sebebi incelenen test maddelerinin farklı grupta yer almaları ve dolayısıyla farklı kimyasal yapıya sahip olmalarıdır.

SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmamızda gıda katkı maddelerinin tat arttırıcı grubunda yer alan Monosodyum glutamat (MSG) KKD'yi genel olarak arttırmış, fakat bu artış önemli bulunmamıştır.

Bu çalışmada monosodyum glutamat (MSG)' in sitotoksik etkisi insan periferel kan lenfositlerinde proliferasyon indeks (PI)'nin saptanması ile belirlenmiştir. MSG, 24 ve 48 saatlik muamelelerde hücre proliferasyonunu etkilememiştir. PI sonuçlarına göre Monosodyum glutamat (MSG)'in hücre bölünmesi üzerine baskılayıcı bir etkisi yoktur, dolayısıyla MSG sitotoksik değildir. Ancak kesin bir sonuca varmak için MSG'nin başka sitotoksikite testleri ile de sitotoksik olup olmadığının test edilmesi gerekir.

KAYNAKLAR

- ALTUĞ, T., 1999. Gıda katkı maddeleri. Hekim ve Yaşam., 99, 29-31.
- ALTUĞ, T., 2001. Gıda Katkı Maddeleri. Ege Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü. 74-136-137-251-254.
- AJI, D.Y., 1998. İ. Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Besin Zehirlenmeleri Sempozyumu. s.153-162.
- BERGEN, H.T., MIZUNO, T.M., TAYLOR, J., (1998). Hyperphagia and weight gain after gold-thioglucose and monosodium glutamate: relation to hypothalamic neuropeptide. Y. Endocrin., 139 : 4483-4488.
- BREITENEDER, H., 2004. Thaumatin-like proteins-a new family of pollen and fruit allergens. Allergy., 59 : 479-481.
- CANIMOĞLU, S. and RENCÜZOĞULLARI, E., 2006. The cytogenetic effects of food sweetener maltitol in human peripheral lymphocytes. Drug Chem Toxicol., 29:269-278.
- CANIMOĞLU, S., 2009. Maltitol'ün sıçanlarda mutajenik ve teratojenik etkileri. Doktora tezi, 83s.
- CHAPARRO-HUERTA, V., RIVERA-CERVANTES, M.C., TORRES-MENDOZA, B.M., BEAS-ZARATE, C., 2002. Neuronal death and tumor necrosis factor-alpha response to glutamate- induced excitotoxicity in the cerebral cortex of neonatal rats. Neurosci. Lett., 333:95-98.
- FARMOBI, E.O., ONYEMA, O.O., 2006. Monosodium glutamate-induced oxidative damage and genotoxicity in the rat: Modulatory role of vitamin C, vitamin E and quercetin. Hum. Exp. Toxicol., 25 : 251-259.
- GÜNEŞLİ, A., 2000, "Bazı gıda boyalarının toksikolojik etkileri" Seminer, A.Ü. Veteriner Fakültesi Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı.
- HEDGE, V.L. and VENKATESH, Y.P., 2004. Anaphylaxis to excipient mannitol: evidence for an immunoglobulin E-mediated mechanism. Clin Exp Allergy, 34 : 1602-1609.

- HILL, A.M. and BELSITO, D.V., 2003. Systemic contact dermatitis of the eyelids caused by formaldehyde derived from aspartame? *Contact Dermatitis*, 49:258-259.
- JEMISON, E.W., BROWN, K., RIVERS, B. and KNIGHT, R., 1984. Cytogenetic effects of cyclamates. *Adv Exp Med Biol.*, 172 : 91-117.
- KOSKELA, H.O., HYVARINEN, L., BRANNAN, J.D., CHAN, H.K. and ANDERSON S.D., 2004. Coughing during mannitol challenge is associated with asthma. *Chest*, 125 :1985-1992.
- KUBO, T., KOHIRA, R., OKANO, T., and ISHIKAWA,K., 1993. Neonatal glutamate can destroy the hippocampal CA1 Structure and impair discrimination learning in rats. *Brain Res.*, 616 : 311-14.
- MORENO, G., PERELLÓ, GAILLARD, R. C., SPINEDI, E., 2005. Orexin a stimulates hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA) axis function, but not food intake, in the absence of full hypothalamic NPY- ergic activity. *Endocrine*, 26 : 99-106.
- MOZES, S., SEFCIKOVA, Z., LENHARDE, L., RAEK, L., (2004). Obesity and changes of alkaline phosphatase activity in the small intestine of 40-80-day old subjects to early postnatal overfeeding of monosodium glutamate. *Physiol. Res.*, 53 :177-186.
- OLNEY, J., 1969. Brain lesions, obesity and other disturbances in mice treated with monosodium glutamate. *Science.*, 164 : 719-721.
- OLNEY, J.W., and HO, O.L., 1970. Brain damage in infant mice following oral intake of glutamate, aspartate or cystein. *Nature.*, 227, 609-11.
- ÖNER, N., GÜNCAN. Ö., YOYSAL, E., (2003). Adolesan ve Çocuklarda Baş Ağrısı. *Step.*, 12(8) : 298.
- ÖZBENLİ, T., (1994). Patogenezi. *Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Dergisi.*, 11(1): 59-66.
- ÖZKAYA, İ., 2004. Gıda katkı maddeleri ve toksinler. İçinde: Oşar, Z., Erkan, T., (yazarlar). *Sağlıkta ve Hastalıkta Beslenme*, İstanbul: Deomed Medikal Yayıncılık., 39-44.
- PAVLOVIC, V., PAVLOVIC, D., KOCIC, G., SOKOLOVIC, D. and JEVTOVIC-STOIMENOV, T., et al., 2007. Effect of monosodium glutamate on oxidative stress and apoptosis in rat thymus. *Mol. Cell, Biochem.*, 303 :161-166.
- RENCÜZOĞULLARI, E., TOPAKTAŞ, M. 1991. The relationship between quantities of bromodeoxyuridine and human peripheral blood with determination of the best differential staining of sister chromatids using chromosome medium-B. *Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 5(3): 19-24.
- RENCÜZOĞULLARI, E., TÜYLÜ, B.A., TOPAKTAŞ, M., İLA, H.B., KAYRALDIZ, A., ARSLAN, M. and DİLER, S. B., 2004. Genotoxicity of aspartame. *Drug Chem. Toxicol.*, 27 : 257-268.
- RENNER, H.W., 1979. Possible mutagenic activity of saccharin. *Experientia*, 15;35(10) :1364-1365.

- SPEIT, G., HAUPTER, S. 1985. On the Mechanism of Differential Giemsa Staining of Bromodeoxyuridine Substituted Chromosomes. II. Differences. Between the Demonstration of Sister Chromatid Differentiation and Replication Patterns. *Human Gen.*, 70: 126-129.
- TAKIZAWA, Y. and HACHIYA, N., 1984. Bacterial reversion assay and micronucleus test carried out on hydrogenated glucose syrups "Malti-Towa" (powder) and maltitol crystal. *Mutation Res.*, 137 :133-137.
- TOPAKTAŞ, M., SPEIT, G., 1990. Sister Chromatid Exchange (SCE) Testinin Mutajenite ve Kanserojenitenin Belirlenmesinde Kullanılması. *Ç. Ü. Sağlık Bil. Der.*, 5(1, 2, 3):73-84.
- WALKER, R., LUPIEN, J.R., 2000. The safety evaluation of monosodium glutamate. *J. Nutr.* 130 (4S suppl):1049-1052.
- WOLFF, S. ve RODIN, B., 1978. Saccharin-induced sister chromatid exchanges in Chinese hamster and human cells, *Science*. 200:(4341), 543-545.
- ZHANG, N., HUAN, Y., HUANG, H., SONG, G.M., SUN, S.J., SHEN, Z.F., 2010. Atorvastatin improves insulin sensitivity in mice with obesity induced by monosodium glutamate. *Acta Pharmacologica Sinica*, 31: 35-42.