REVISTA DE FITOTERAPIA · Volumen 7, N.º 2 · Noviembre 2007

Revista de Fitoterapia

SUMARIO

Editorial	99
Estudio clínico comparativo: gel de árnica frente a gel de ibuprofeno en el tratamiento tópico de la osteoartritis de la mano Reto Widrig, Andy Suter, Reinhard Saller, Jörg Melzer	101-112
Aplicación de las tecnologías *ómicas* a la Fitoterapia Gudrun Ulrich-Merzenich, Heike Zeitler, Detmar Jobst, Darius Panek, Hans Vetter, Hildebert Wagner	115-129
Posibilidades terapéuticas del bulbo de ajo (*Allium sativum*) Mª Concepción Navarro	131-151
Plantas empleadas popularmente en el tratamiento de verrugas José Waizel-Bucay	153-170
Hemeroteca Ester Risco Rodríguez	173-178
Biblioteca	179
Reseña de congresos	181-182
Sociedad Española de Fitoterapia	183
Instrucciones para los autores	185-186

ÓRGANO OFICIAL SEFIT SOCIEDAD ESPAÑOLA DE FITOTERAPIA

REVISTA DE FITOTERAPIA · Volumen 7 · N.º 2 · Noviembre 2007



FIGURA 1. Bulbo de ajo. Ilustración: Josep Vanaclocha.

Posibilidades terapéuticas del bulbo de ajo (*Allium sativum*)

Mª Concepción Navarro

Departamento de Farmacología. Facultad de Farmacia, Universidad de Granada.

Abstract

In addition to its use as food, garlic bulbs (*Allium sativum* L., Liliaceae) have been used since long time, for several therapeutic purposes, e.g.: treatment of hypertension and infectious processes. At present, the scientific interest on garlic is mainly directed to validate its activity on relevant health issues, as cardiovascular disease (CVD) and cancer. The numerous studies so far performed have shown the activity of some of the market-available products (garlic powder tablets, steam-distilled oil, aqueous and hydroalcoholic extracts, aged garlic extract (AGE), etc) and of their main constituents on the factors involved in CVD and cancer processes. Moreover, the antioxidant and antimicrobial effects of these preparations and some of their main constituents have been demonstrated.

Key words

Allium sativum, garlic, alliine, allicine, S-allyl cisteyne, cardiovascular disease, cancer, oxidative stress.

Resumen

El bulbo de ajo (*Allium sativum* L., Liliaceae) es empleado desde antiguo, además de en alimentación, con distintos fines terapéuticos, tales como el tratamiento de la hipertensión, procesos infecciosos, etc. En la actualidad, el interés científico por el bulbo de ajo se encuentra dirigido a validar su actuación en ámbitos de la salud tan relevantes como la enfermedad cardiovascular y los procesos cancerosos. Los numerosos estudios realizados hasta el momento han puesto de manifiesto la actuación de algunos de los preparados disponibles en el mercado (tabletas de ajo pulverizado, aceite de ajo obtenido mediante destilación, extractos acuo-sos e hidroalcohólicos, extracto de ajo envejecido (AGE), etc.) y de sus principales componentes, tanto en el tratamiento de los distintos factores implicados en la enfermedad cardiovascular como en algunos de los pasos del proceso canceroso. Además, se han demostrado los efectos antioxidantes y antimicrobianos de dichos preparados y de algunos de los principales componentes de los mismos.

Palabras clave

Allium sativum, ajo, aliína, alicina, S-alilcisteína, enfermedad cardiovascular, cáncer, estrés oxidativo.

© CITA PUBLICACIONES 2007

Fuente: www.fitoterapia.net

BY NC ND

Revista de Fitoterapia 2007; 7 (2): 131-151

Introducción

El género *Allium* comprende alrededor de 500 especies, de las cuales *A. sativum* L. (ajo), junto con *A. cepa* L. (cebolla), es una de las más utilizadas [(1)]. El origen del ajo se situa en las regiones de Asia Central, en el desierto siberiano de Kirghiz, desde donde pasó, gracias a los pueblos nómadas, a Arabia, Egipto, China y al Mediterráneo, a través de las diferentes rutas comerciales y las campañas militares de conquista que tuvieron lugar a lo largo de la historia [(2)]. Se trata de una especie ampliamente cultivada en distintas partes del mundo y sus bulbos, además de ser objeto de un amplio consumo en alimentación, e ingrediente habitual de la cocina mediterránea, son empleados desde la antigüedad en medicina tradicional para el tratamiento de diversas afecciones, siendo clásico su uso como vermífugo, antiséptico, antimicrobiano, antipirético y analgésico; además se le han atribuido efectos beneficiosos sobre la longevidad, el vigor y la fuerza física.

Su uso milenario con intencionalidad terapéutica se encuentra reflejado en registros procedentes de distintas civilizaciones; así, aparece descrito en las tablillas sumerias, en el papiro de Ebers, en el que aparece reflejada la gran importancia que atribuían al ajo, haciendo referencia a sus beneficios sobre los trabajadores dedicados a las tareas más duras, como la construcción de las pirámides. Igualmente, existen evidencias de que en la Grecia clásica, durante los Juegos Olímpicos, se incluía el ajo en la alimentación de los atletas con el fin de aumentar su vigor. En la antigua medicina china, el ajo era prescrito para favorecer la respiración y la digestión, así como para combatir la diarrea, además de recomendarse su uso por los ancianos para prevenir eventos trombóticos. En el Charaka-Samhita, texto médico hindú, se recomendaba el ajo para el tratamiento de afecciones del corazón y de la artritis; otro texto hindú, el manuscrito Bower, recoge el empleo del ajo en caso de fatiga, parasitosis, trastornos digestivos y lepra. En Europa, el interés por el ajo como medicamento aparece en el siglo XVI, utilizandose prácticamente como una panacea, ya que estaba recomendado en distintas situaciones, tales como dolores de cabeza, partos dificultosos, parasitosis intestinales y alteraciones digestivas y renales, entre otras.

Las acciones farmacológicas de los diversos productos obtenidos a partir de bulbo de ajo, en especial los extractos de ajo envejecido (AGE), han sido objeto de numerosos estudios en distintas áreas, tales como las relativas a su papel en la protección cardiovascular, cáncer, metabolismo y actividad antioxidante, entre otras, que se han traducido en numerosas publicaciones (FIGURA 2).

Composición

El bulbo de ajo (Allii sativi bulbus), contiene una elevada proporción de agua (65%). Presenta como componentes mayoritarios carbohidratos caracterizados por la presencia de fructosa, seguidos por compuestos azufrados, proteínas, aminoácidos libres, derivados fenólicos y fibra, así como un contenido apreciable en distintos minerales (fósforo, potasio, azufre, zinc) y saponinas, junto con niveles moderados de selenio y vitaminas A y C, pequeñas cantidades de otros minerales (calcio, magnesio, sodio, hierro, manganeso) y distintas vitaminas del complejo B.

De entre todos los grupos de compuestos presentes en el bulbo de ajo, destacan los derivados azufrados (FIGURA 3), la mayoría de ellos solubles en agua, representados mayoritariamente en el ajo fresco por la aliína (sulfóxido de S-alil-cisteína), que constituye el principal sustrato para la enzima aliinasa (activa a pH 4-5,8) que, una vez liberada de su compartimento intracelular por daño o lisis (corte o molturación del bulbo de ajo), transforma a la aliína en alicina (dialiltiosulfonato), compuesto inestable, incoloro y ópticamente activo, responsable del olor característico del ajo, y principal componente de los extractos acuosos y de los homogeneizados de ajo. La alicina, cuya vida media a Tª ambiente es de 2,4 días, se descompone rápidamente dando lugar a la formación de mono- di- y trisulfuros, así como de

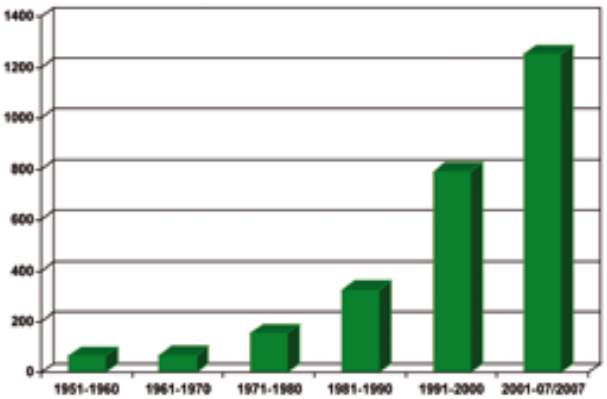


FIGURA 2. Evolución de las publicaciones sobre *Allium sativum* L. (Datos obtenidos a partir de PubMed).

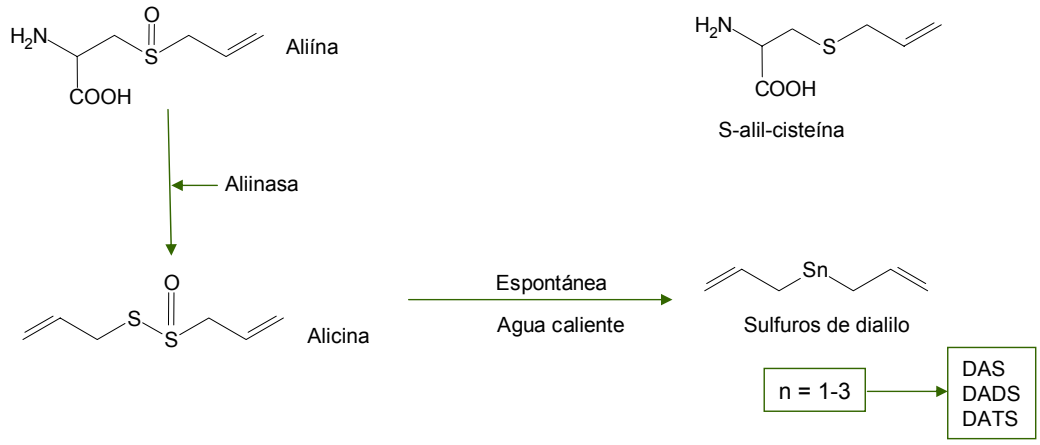


FIGURA 3. Estructura de alguno de los principales componentes del bulbo de ajo, y sus derivados. DAS: Sulfuro de dialilo; DADS: Disulfuro de dialilo; DATS; Trisulfuro de dialilo.

otros derivados azufrados como el ajoeno (4,5,9-tritiododeca-1,6,11-trieno-9-óxido) [3], formado a partir de tres moléculas de alicina y dotados de mayor estabilidad que su precursor. Otros derivados azufrados presentes en los homogeneizados de ajo son el alil metiltiosulfonato, 1-propenil-alil tiosulfonato y la γ-L-glutamil-S-alil-L-cisteína. La conservación a temperatura ambiente de estos homogeneizados da lugar a un notable incremento en la concentración de adenosina.

Sin embargo, no se puede perder de vista el hecho de que la composición cualitativa y cuantitativa de los derivados azufrados se encuentra sujeta a importantes variaciones (TABLA 1) según el proceso al que sean sometidos los bulbos de ajo, lo cual incide a su vez en su actividad [4, 5], tal y como ha sido observado en los trabajos realizados sobre bulbos de ajo frescos o sometidos a distintos tiempos de cocción, en los extractos acuosos obtenidos a partir de ellos, en el aceite extraído por destilación y en el extracto obtenido mediante el denominado proceso de envejecimiento (AGE: aged garlic extract), proceso este último que consiste en mantener los bulbos de ajo cortados en finas capas en una solución etanólica al 15-20%, a temperatura ambiente, durante 20 meses [6], tras lo cual se procede a la filtración y concentración del extracto a presión reducida y baja temperatura. Durante este proceso de obtención del AGE, muchos de los componentes liposolubles, volátiles e inestables, como la alicina, se transforman en compuestos hidrosolubles más estables, de los cuales el más representativo es la S-alil-cisteína (SAC), acompañado de S-alil-mercaptocisteína (SAMC) y otros. La normalización de los AGE se realiza en relación con el componente mayoritario de los mismos, la S-alil-cisteína (SAC) [7]. La concentración de SAC en el AGE es de 1000 µg/g, mientras que en los bulbos de ajo crudo su contenido es de 20 µg/g [8].

La monografía del extracto fluido obtenido a partir de la solución hidroalcohólica del AGE se encuentra incluida en la farmacopea estadounidense (USP25 NF20, 2002) [9].

El bulbo de ajo en la enfermedad cardiovascular

La protección cardiovascular acoge la actuación sobre múltiples factores, tales como los implicados en la aparición y desarrollo de la aterosclerosis, la hipertensión arterial y la diabetes. La aterosclerosis constituye una compleja alteración caracterizada por una excesiva respuesta inflamatoria y proliferativa al daño de la pared arterial que implica a diversos tipos de células, especialmente a las células del músculo liso vascular, monocitos, linfocitos T y plaquetas, así como por alteraciones del perfil lipídico. Por otra parte, la oxidación del LDLc por sustancias reactivas de oxígeno (ROS) es considerada como un mecanismo importante en el desarrollo de la aterosclerosis y en la patogénesis de la hipertensión. Igualmente, existen abundantes evidencias que sustentan la implicación de la agregación plaquetaria en el desarrollo de la aterosclerosis. En consecuencia, la normalización del perfil lipídico y de los valores de la presión arterial, la inhibición de la agregación plaquetaria y la mejora del estatus antioxidante, constituyen objetivos primordiales, junto con el control de la diabetes, en la prevención y

BY NC ND

Revista de Fitoterapia 2007; 7 (2): 131-151

Procesado	Componente
Molturación	Alicina
Decocción	Ajoeno Sulfuros de alilo
Destilado (aceite)	DADS y DATS
Extracción acuosa	Alicina
Extracción alcohólica	Ajoeno
Extracción hidroalcohólica de ajo envejecido (AGE)	SAC y SAMC
DADS: Disulfuro de dialilo; DATS; Trisulfuro de dialilo; SAC: S-alil-cisteína; SAMC: S-alil-mercapto-cisteína.	

TABLA 1. Componentes mayoritarios de distintos preparados del bulbo de ajo según tipo de procesado.

tratamiento de la enfermedad cardiovascular (TABLA 2) [10].

El bulbo de ajo, empleado tradicionalmente en el tratamiento de afecciones cardiovasculares, ha sido objeto de múltiples estudios preclínicos *in vitro* e *in vivo*, así como de distintos ensayos clínicos, destinados tanto a validar su efecto en la prevención y tratamiento de la enfermedad cardiovascular, como a establecer los mecanismos implicados en su actuación.

Ensayos *in vitro*

Son muy abundantes los estudios *in vitro* en los que se ha confirmado la actuación del bulbo de ajo sobre distintos factores implicados en la aparición y desarrollo de la enfermedad cardiovascular.

- Perfil lipídico

En experiencias realizadas sobre cultivos primarios de hepatocitos, Yeh y Yeh [11] pusieron de manifiesto la actuación como antihipercolesterolemiante del bulbo de ajo. En posteriores ensayos realizados igualmente sobre cultivo primario de hepatocitos, se demostró que los componentes azufrados del ajo, tanto liposolubles como hidrosolubles interferían en la síntesis de los triglicéridos y en la del colesterol [12]. Esta actividad antihipercolesterolemiante parece ser debida, al menos en parte, a la inhibición por distintos derivados azufrados (SAC, DADS, DATS) de enzimas implicadas en el metabolismo del colesterol, como la hidroxi metil glutaril CoA reductasa (HMG CoA reductasa) [13-16]. Además, el bulbo de ajo ha mostrado capacidad inhibitoria de distintas enzimas lipogénicas, como es el caso de la sintasa de ácidos grasos (FAS). Por otra parte, la adición de AGE al 0,2% al medio de cultivo, inhibe la acumulación de lípidos en los macrófagos, a la vez que impide la proliferación de las células del músculo liso vascular [17].

- Agregación plaquetaria

Los datos de que se dispone son indicativos de que tanto el bulbo de ajo como sus extractos acuosos son inhibidores de la agregación plaquetaria a través de múltiples mecanismos [18]. En este sentido, se ha demostrado que un extracto acuoso de ajo presentó actividad inhibitoria de la agregación plaquetaria inducida por distintos agentes (ADP, adrenalina, colágeno y ácido araquidónico) de forma dosis-dependiente [19].

De acuerdo con los ensayos realizados por Allison *et al*. [20] el AGE actúa de forma sinérgica sobre la agregación de las plaquetas a través de distintas vías, tales como las relativas a cambios en la fluidez de las membranas, inhibición de la fosfolipasa C y de la movilización del Ca^{2+}, aumento en la producción de óxido nítrico y de AMPc, e inhibición del tromboxano A_2, todo lo cual conduciría a la inhibición de la agregación plaquetaria.

El ajoeno, uno de los principales componentes de los extractos alcohólicos del bulbo de ajo, inhibe la activación de las plaquetas, la unión de las mismas a la pared de los vasos dañados y la formación de trombos. En su actividad antiagregante se encuentra implicada la inhibición de la vía de la lipooxigenasa y la tirosina fosfatasa plaquetarias [21]. El ajoeno, además de presentar por si mismo actividad antiagregante plaquetaria, es capaz de potenciar la de la prostaciclina [22].

- Coagulación y fibrinolisis

Los ensayos realizados sobre un cultivo de células endoteliales procedentes de cordón umbilical, al que se adicionó un extracto acuoso de bulbo de ajo en el que previamente se había procedido a la inactivación de la aliinasa, mostraron que dicho extracto promovía la activación del plasminógeno [23], mediante la aceleración de la activación mediada por el t-PA (activador del plasminógeno).

- Glucosilación proteica

En los pacientes afectados de diabetes, las proteínas ven incrementada su glucosilación debido a que la glucosa reacciona con sus grupos amino formando una base de Shiff débil que, como con-

secuencia de posteriores reacciones, da lugar a la formación de unos compuestos denominados productos finales de glucosilación. La acumulación de estos compuestos en los tejidos del paciente está directamente relacionada con la aparición de muchas de las complicaciones de la diabetes, así como con el envejecimiento del organismo. Los productos finales de la glucosilación pueden interactuar con receptores celulares que activan al factor nuclear κB (NF-κB), el cual se encuentra implicado en la generación de moléculas proinflamatorias y en el estrés oxidativo. Como consecuencia, cabe pensar que los compuestos que unan a su actividad antioxidante la de antiglucosilación, ofrecerían una alta protección frente al daño celular inducido por la hiperglucemia. En este sentido, los estudios realizados con AGE [8] y con su principal componente, la S-alil-cisteína (SAC) han puesto de manifiesto que tanto AGE como SAC inhiben la formación de los citados productos de glucosilación final. Este efecto sobre la glucosilación puede ser debido a la capacidad quelante de los metales de transición por el AGE y la SAC, ya que dichos metales son imprescindibles en la síntesis de estos productos finales de glucosilación.

Por otra parte, la SAC inhibió la síntesis de un producto de glucosilación formado como consecuencia del estrés oxidativo. Además, ha sido demostrado que la SAC inhibe la activación del NF-κB en forma dosis dependiente [24] así como la producción de citocinas inflamatorias tales como la IL-6 (interleucina-6) por las células mononucleares sanguíneas [25]. Además, la actuación del bulbo de ajo sobre la hipertensión podría estar mediada, al menos en parte, por su efecto sobre los canales de K^+, la concentración intracelular de Ca^{2+} y la inhibición de la enzima convertidora de la angiotensina (ECA) [26, 27].

- Defensas antioxidantes

Muchos de los efectos beneficiosos del bulbo de ajo han sido atribuidos a su capacidad para mejorar el estatus oxidativo [28]. Así, el aceite de bulbo de ajo adicionado a un cultivo de células amnióticas humanas, disminuyó la producción de radicales libres de oxígeno inducida por un agente pro-oxidante [29].

Igualmente, ha sido demostrado que el AGE tiene un efecto quelante sobre los iones Cu^{2+} y que protege a las LDL de la oxidación [6], minimizando el estrés oxidativo intracelular así como el daño celular, según se ha podido constatar en cultivos de células endoteliales tratadas con LDL oxidada [24]. Por otra parte, el AGE incrementa la actividad de enzimas antioxidantes como la superóxido dismutasa (SOD), catalasa y glutation peroxidasa, las cuales desempeñan la función de proteger al organismo frente al daño que inducen los radicales libres [30]. Además tanto el AGE como su componente mayoritario, la S-alil-cisteína, suprimen la formación del radical libre hidroxilo [31-32].

En cuanto a la protección del daño inducido por distintos agentes oxidantes sobre el ADN, los ensayos realizados con células HepG2 pusieron de manifiesto el efecto protector de distintos derivados sulfurados del ajo (DADS, SAC, etc.) [33].

En lo que se refiere a la actuación del bulbo de ajo sobre los radicales libres de nitrógeno, como el radical peroxinitrito, se ha demostrado que la SAC (S-alil-cisteína) previene la hemólisis inducida por dicho radical [34]. La actividad antirradicalaria de preparados de ajo no sometidos a calentamiento se extiende igualmente a los radicales libres de cloro (ácido hipocloroso) [35].

Estudios *in vivo*

- Diabetes

Los resultados obtenidos en los primeros estudios sobre la posible actividad antidiabética del bulbo de ajo y sus derivados, pusieron de manifiesto la actividad antihiperglucemiante de distintos productos obtenidos a partir de bulbo de ajo, en particular de la alicina, proponiéndose que su efecto sobre los niveles de glucemia podrían ser debidos a la estimulación de la secreción de insulina por los derivados azufrados del ajo [36-38]. Posteriormente, en ensayos realizados sobre ratas a las que se había inducido una diabetes experimental mediante la administración de estreptozotocina, se demostró que en el grupo de ratas tratadas con extracto alcohólico de bulbo de ajo tenía lugar una disminución significativa de los niveles séricos de glucosa, con incremento de los niveles plasmáticos de insulina [39]. Esta actuación sobre la concentración de glucosa en sangre estuvo acompañado de la disminución de otros parámetros que pueden encontrarse afectados en el estatus diabético, tales como son los relativos a las concentraciones plasmáticas tanto de colesterol y TG (triglicéridos) como de urea y creatinina, las cuales ven incrementados sus niveles en el proceso diabético debido a la glucosilación de las proteínas. Igualmente se observó la disminución de las concentraciones plasmáticas de AST y ALT, enzimas

BY NC ND

hepáticas alteradas debido al efecto negativo de la estreptozotocina sobre la glándula hepática [40].

- Perfil lipídico

La actuación del bulbo de ajo sobre los niveles plasmáticos de TG ha sido constatado por diversos autores [39, 41-42]. En cuanto a la disminución de niveles de colesterol, existen evidencias de que el tratamiento *in vivo* con extracto de ajo produce la reducción, en forma dosis dependiente [43] de los niveles plasmáticos de colesterol anormalmente elevados [4, 44], así como que el tratamiento con AGE disminuye la progresión del proceso aterosclerótico en animales de experimentación [45].

Igualmente, ha sido puesto de manifiesto el descenso del colesterol en el tejido aórtico, así como la disminución en la formación de las bandas de grasa y en el tamaño de la placa aterosclerótica inducida en la carótida, en un modelo experimental en el que se emplearon ratones ateroscleróticos [17].

Por otra parte, la adición a la dieta de bulbos de ajo, da lugar a la disminución de la actividad de enzimas lipogénicas y colesterogénicas, como la hidroxi metil glutaril CoA reductasa (HMG CoA reductasa) [46].

En cuanto a la posible influencia del procesado en el mantenimiento de la actividad, según los resultados obtenidos por Gorinstein *et al*. [43], el ajo sometido a cocción durante 20 minutos posee la misma actividad que el bulbo fresco, tanto en lo que se refiere a la disminución de los valores de colesterol total y LDLc, como sobre el estrés oxidativo, si bien un alargamiento en el tiempo de cocción da lugar a un descenso en la actividad del bulbo de ajo.

- Trombogénesis

De acuerdo con los resultados obtenidos a partir de un ensayo *ex vivo*, tanto DADS (disulfuro de dialilo) como DATS (trisulfuro de dialilo) protegen a las plaquetas frente a la agregación inducida mediante adenosina-5-difosfato (ADP). En ensayos *in vivo* se constató que la administración de un aceite de ajo con alta riqueza en DATS, a dosis de 5 y 50 mg por kg de peso corporal, daba lugar a la prolongación tanto del tiempo de sangrado como del de trombina, aumentando la actividad de factores anticoagulantes, como la antitrombina III y la proteína C, lo cual favorecería la respuesta anticoagulante y, por tanto, podría prevenir, en mayor o menor medida, la formación de trombos. Sin embargo, hay que señalar que la administración de la dosis mas alta (50 mg/kg) ocasionó en los animales de experimentación un incremento del fibrinógeno, lo cual constituye un factor de riesgo en la trombogénesis; y si bien este aumento en fibrinógeno no se tradujo en una aceleración del proceso de coagulación sanguínea, es recomendable, en opinión de los autores, el empleo de la dosis inferior de aceite de ajo, en evitación de posibles alteraciones hematológicas [47]. Por otra parte, en un ensayo realizado sobre conejos, el pretratamiento con extracto acuoso de ajo, dio lugar a la inhibición de la síntesis de tromboxano B_2 a la vez que protegió frente a la trombocitopenia inducida mediante colágeno [48].

Además, tras la administración intragástrica de 50 mg/día de aceite de ajo a ratas en las que se había provocado una diabetes experimental mediante estreptozotocina, se observó la disminución de factores de coagulación tanto intrínsecos como extrínsecos [49]. Y en los estudios *in vivo* llevados a cabo por Fukao *et al*. [23], se ha puesto de manifiesto que la administración de un extracto acuoso obtenido a partir de bulbo de ajo en el que previamente se había procedido a la inactivación de la aliinasa, suprimía la coagulación mediante la regulación a la baja de la formación de trombina.

En la actuación de los bulbos de ajo sobre la agregación plaquetaria, se ha demostrado que, además de los derivados azufrados, como la alicina y los sulfuros de alilo, interviene la adenosina [50], cuyo contenido se ve incrementado en los preparados de ajo fresco conservados a Tª ambiente.

- Endotelio y presión arterial

Un aspecto importante a tener en cuenta en el proceso aterosclerótico es el relativo a la expresión de las moléculas de adhesión (ICAM, VCAM), glucoproteínas expresadas por distintos tipos de células, tales como las del endotelio vascular. La importancia de estas moléculas de adhesión radica en que se encuentran implicadas además de en la aparición y desarrollo de enfermedades autoinmunes, en el proceso inflamatorio vascular [51]. Los resultados obtenidos a partir de distintos estudios, son indicativos de que los bulbos de ajo y sus componentes inhiben tanto la expresión de las moléculas de adhesión como la adhesión celular [52,53]. En este sentido, se ha demostrado que la alicina inhibe la migración celular mediante reducción de la expresión de la molécula de adhesión vascular VCAM-1 [54]. Igualmente se ha puesto de manifiesto que este mismo derivado organosulfurado disminuye la inducción de la ICAM-1 en forma dosis-dependiente en ensayos sobre células endoteliales vasculares en los que se estimuló la expresión de esta molécula de adhesión mediante radiaciones infrarrojas [51]. Además, se

BY NC ND

Parámetro	Actividad
Perfil lipídico	↓ HMG CoA-reductasa
	↓ FAS (sintasa de ácidos grasos)
	↓ Oxidación LDLc
	↓ Niveles plasmáticos de colesterol (10-12%)
Agregación plaquetaria y trombogénesis	↓ Fosfolipasa C
	↑ Movilización del Ca2+ intracelular
	↓ Tromboxano A2
	↑ Actividad antiplaquetaria de la prostaciclina
	↑ Actividad factores anticoagulantes - antitrombina III - proteína C
Endotelio y presión arterial	↓ Moléculas adhesión celular (ICAM, VCAM)
	↑ Síntesis óxido nítrico
	↓ ECA (enzima convertidora de la angiotensina)
	Discreto descenso de la presión arterial
Otros parámetros	↓ Glucosilación proteica
	↓ Factor nuclear κB
	↓ Moléculas proinflamatorias
	↓ Estrés oxidativo

TABLA 2. Enfermedad cardiovascular. Factores sobre los que actúan distintos componentes del bulbo de ajo.

constató la inhibición de la adhesión de los monocitos a las células endoteliales. (TABLA 2).

En cuanto al AGE, se ha demostrado que mejora la función endotelial [55] e inhibe el daño sobre las células del endotelio vascular [56], además de favorecer la síntesis del óxido nítrico (NO) [57] y la relajación del endotelio vascular NO-dependiente [58]. La S-alil-cisteína, componente mayoritario del AGE, es responsable en gran medida del incremento del NO endotelial [31].

En lo relativo a la actuación *in vivo* del bulbo de ajo sobre la presión arterial, las experiencias llevadas a cabo sobre ratas hipertensas, han puesto de manifiesto que la administración diaria de un extracto acuoso de ajo fresco previene el incremento en la presión arterial inducido por la inhibición crónica de NO [59], lo cual sugiere que el posible efecto antihipertensor del bulbo de ajo se encuentra mediado, al menos en parte, por su actuación sobre la síntesis de eNO (óxido nítrico endotelial) [60].

- Estatus oxidativo

En un ensayo realizado sobre animales de experimentación tratados con un agente inductor de daño oxidativo, se observó que en el grupo al que se había administrado aceite de bulbo de ajo, los valores correspondientes a las especies reactivas de oxígeno (ROS) así como los relativos a la producción de malondialdehido fueron significativamente inferiores a los del grupo control. De igual forma, el número de células con daño en el ADN y mitocondrial fue inferior en el grupo tratado con aceite de ajo [29]. Por otra parte, ha sido demostrado que la administración crónica a animales de experimentación de un homogeneizado de bulbos de ajo, protegió el corazón del daño oxidativo inducido mediante isquemia-reperfusión [61].

Los dialilos de sulfuro formados a expensas de la alicina, presentan la característica de disminuir el estrés oxidativo y de preservar el tejido renal frente a agentes nefrotóxicos [62]. En este sentido, se ha demostrado recientemente que el DATS (dialil trisulfuro) inhibe el daño renal y los eventos de daño oxidativo en ratas a las que se administró cadmio, metal nefrotóxico que interfiere con los mecanismos de defensa antioxidante [63]. En lo referente a la S-alil-cisteína, principal componente del AGE, los estudios realizados sobre ratas son demostrativos de que este derivado azufrado produce una disminución del daño hepático inducido por el tetracloruro de carbono, cuyo efecto hepatotóxico se encuentra mediado por la formación de radicales libres [64].

Ensayos clínicos

Los abundantes ensayos clínicos realizados hasta el momento (TABLA 3), han contemplado la actuación de los distintos productos obtenidos a partir de bulbo de ajo (aceite de ajo, extracto acuoso de ajo, extracto envejecido de ajo, etc.) así como de sus principales componentes sobre algunos de los principales factores implicados en la aparición y desarrollo de la enfermedad cardiovascular.

En la revisión realizada por Rahman y Lowe [10] se recogen los ensayos clínicos entre 1993 y 2004. Esta revisión contempla exclusivamente los ensa-

BY NC ND

Tipo de trabajo	Patología	Parámetros	Autor, año (referencia)
Meta-análisis	Hipertensión	Discreto descenso valores presión arterial	Ackemann *et al.*, 2001 [68]
Revisión	Hipercolesterolemia	↓ 10% colesterol total ↓ 12% LDLc	Rahman *et* Lowe, 2006 [10]
Ensayo clínico	Hipercolesterolemia	↓ 12% colesterol total ↓ 17% LDLc	Kojuri *et al.*, 2007 [46]
Ensayo clínico	Hipercolesterolemia y/o enfermedad coronaria	↓ Agregación plaquetaria	Rahman, 2003 [69]
Ensayo clínico	Hipercolesterolemia y/o enfermedad coronaria	↓ Agregación plaquetaria	Banerjee y Maulik, 2002 [70]
Ensayo clínico	Hipercolesterolemia y/o enfermedad coronaria	↓ Agregación plaquetaria	Steiner y Li, 2001
Ensayo clínico	Hipertensión esencial	Mejora el estatus oxidativo	Dawhan y Jain, 2005 [72]
Ensayo clínico	Voluntarios sanos	↑ Flujo sanguíneo periférico	Anim-Nyame *et al.*, 2004 [79]
Ensayo clínico	Enfermedad coronaria	↑ Función endotelial	Williams et al., 2005 [77]
Ensayo clínico	Hipercolesterolemia	↓ Progresión calcificación en coronarias	Budoff, 2006 [80]

TABLA 3. Eficacia del ajo en el tratamiento de afecciones cardiovasculares. Resumen de evidencias.

yos clínicos que tuvieron al menos dos semanas de duración y en los que se incluía la consideración de los siguientes parámetros: efectos sobre los niveles plasmáticos de colesterol; inhibición de la agregación plaquetaria; actuación sobre la presión arterial y otros efectos cardioprotectores.

En lo relativo a la actuación sobre los niveles de colesterol anormalmente elevados, de los 25 ensayos clínicos realizados entre 1993 y 2004, en catorce de ellos no se apreció disminución significativa de este parámetro, mientras que en los once restantes se apreció una reducción significativa del colesterol plasmático. De acuerdo con lo apuntado por los autores, resulta de especial interés el hecho de que en cinco de los catorce estudios con resultado negativo, los voluntarios que participaron eran normolipidémicos, ocho de los pacientes habían sido diagnosticados de hiperlipidemia leve y el restante se realizó sobre adolescentes con hiperlipidemia familiar. Sin embargo, los once estudios en los que se observó un efecto significativo en el descenso del colesterol, la totalidad de los pacientes reclutados presentaban valores altos de colesterol, observándose reducciones de los niveles de colesterol y LDLc entre un 10 y un 12% [65, 66]. Los datos obtenidos a partir de un ensayo clínico ciego simple, controlado frente a placebo, realizado con posterioridad [46], en el que tomaron parte pacientes hipercolesterolémicos, ratifican el descenso del 12% en las tasas de colesterol total, mientras que el LDLc experimentó una disminución del 17,3%.

En cuanto a los productos de ajo empleados en el caso de estos once ensayos clínicos, en cinco de ellos el tratamiento se realizó con AGE y en el resto con ajo pulverizado. Por otra parte, los meta-análisis realizados hasta el momento concluyen que el ajo presenta un efecto superior al placebo en la reducción de los niveles elevados de colesterol [67,68].

En seis de los nueve ensayos clínicos relativos a la actuación del bulbo de ajo sobre la presión arterial, la administración de AGE, de bulbos de ajo pulverizados, o bien mediante su introducción en la dieta, se observó una disminución significativa en los valores del citado parámetro. Además, los datos resultantes del meta-análisis publicado en 2001 por Ackemann *et al.* [68] confirman el efecto beneficioso, si bien discreto, de los preparados de ajo sobre la presión arterial.

En relación con la actuación del bulbo de ajo sobre otro factor de gran importancia en la enfermedad cardiovascular, la agregación plaquetaria, los siete ensayos clínicos de que se dispone muestran que los preparados de ajo, tanto en el caso de voluntarios sanos como en el de los afectados por hipercolesterolemia moderada y/o enfermedad coronaria produce una disminución en la agregación plaquetaria [18, 69, 70]. En cuanto a los posibles factores implicados en la inhibición de la agregación plaquetaria, al menos para DADS y DATS, los resultados obtenidos en un ensayo clínico sobre pacientes con enfermedad coronaria, son demostrativos de que ambos derivados organosulfurados inhiben en humanos la formación de tromboxano, (tal y como se había demostrado previamente en distintos ensayos *in vitro*), y por tanto la agregación plaquetaria [71].

Entre otros factores a considerar en la iniciación y progresión de la enfermedad cardiovascular, destaca el relativo al estatus oxidativo del paciente. En este sentido, se dispone de ocho ensayos clínicos en los que se ha sometido a consideración la actuación del bulbo de ajo sobre el estrés oxidativo. Los resultados obtenidos en seis de ellos, realizados tanto sobre voluntarios sanos como en pacientes con hipertensión esencial o con niveles medios/altos de colesterolemia, son indicativos de la actuación positiva de los preparados de ajo sobre las defensas antioxidantes. De particular interés es el ensayo clínico llevado acabo por Dawhan y Jain [72], en el que los pacientes reclutados padecían hipertensión esencial, en los cuales se observó, que tras ocho semanas de tratamiento con aceite de ajo, se producía una disminución significativa en los valores de la 8-OHdG (8-hidroxi-2'-deoxiguanosina), marcador del daño oxidativo sobre el ADN, y de productos procedentes de la peroxidación lipídica. Además, se produjo una variación a la baja de los niveles plasmáticos de colesterol total, LDLc y triglicéridos, junto con un moderado descenso de la presión arterial. Es de destacar el hecho de que en cuatro de los ensayos en que se constató la actuación positiva del ajo frente al estrés oxidativo, el preparado empleado fue el AGE [73-76]. Por otra parte, los resultados obtenidos en un ensayo clínico en el que tomaron parte varones afectados por enfermedad coronaria, se observó que la administración de 2,4 g/ día de AGE, producía la mejoría de la función endotelial. Dicha actuación no estuvo acompañada de cambios significativos en los marcadores de estrés oxidativo sistémico, inflamación y activación del endotelio [77].

A todo lo anterior se añade que, según se ha podido constatar en un ensayo clínico, el bulbo de ajo mejora la elasticidad de los vasos sanguíneos [78]; además, de acuerdo con los resultados obtenidos por Anim-Nyame *et al.* [79] en un ensayo realizado sobre voluntarios sanos, la administración de ajo da lugar al incremento del flujo sanguíneo periférico. Por otra parte, en un estudio piloto realizado sobre pacientes hipercolesterolémicos y tratados con estatinas, se ha podido demostrar que la suplementación con AGE retrasa la progresión de la calcificación coronaria [80]. Este efecto del AGE puede estar relacionado con la reducción de algunos de los factores de riesgo en la enfermedad cardiovascular, tales como los niveles de LDL, lipoperoxidación y coagulación, entre otros [81]. En cuanto a su posible efecto beneficioso en pacientes que han sufrido un infarto de miocardio, los resultados obtenidos en un ensayo aleatorizado frente a placebo, de tres años de duración, en el que participaron 432 pacientes, muestran que en el grupo que recibió, junto a su medicación habitual, un suplemento de aceite de ajo, se produjo una disminución significativa en la tasa de nuevos infartos (44%, $p < 0,001$), así como en la de mortalidad (31%, p< 0 01), en relación con el grupo placebo que recibió sólo su tratamiento habitual [82].

Otro factor a tener en cuenta en la génesis de la enfermedad cardiovascular es la diabetes. Sin embargo, a pesar de los buenos datos obtenidos en ensayos realizados sobre animales de experimentación, los procedentes de ensayos clínicos resultan contradictorios ya que si bien en algunos de los ensayos realizados sobre pacientes diabéticos se observaron descensos en los niveles de glucemia [70, 83], en otros no se apreciaron cambios. Estas diferencias podrían ser debidas, al menos en parte, a los distintos tipos de preparados empleados en los ensayos sobre humanos.

La consideración general de los resultados obtenidos en los distintos ensayos clínicos habla a favor de una actuación positiva del bulbo de ajo sobre los distintos factores implicados en la enfermedad cardiovascular. Sin embargo, es necesario señalar que en un porcentaje no despreciable de ensayos, no se pudo validar la actuación beneficiosa del bulbo de ajo sobre los parámetros sometidos a consideración (niveles de colesterol, presión arterial,

BY NC ND

etc.). Esto puede ser debido, al igual que ocurre con otros productos de origen vegetal, a la variabilidad de los preparados ensayados (ajo entero, ajo pulverizado, aceite de ajo, extracto acuoso, extracto de ajo envejecido, etc.) y, por tanto, a la distinta composición de los mismos, dependiente del procedimiento empleado en su obtención. Entre estos preparados destaca el AGE, con proceso de obtención normalizado, así como el contenido en su principal componente, la S-alil-cisteína (SAC). La homogeneidad en cuanto a la obtención y la composición del AGE empleado en distintos ensayos podría explicar el hecho de que, en términos generales, los resultados observados en los ensayos preclínicos hayan tenido su correspondencia con los datos obtenidos en los mas de 40 ensayos clínicos realizados hasta el momento con el AGE, en los que se ha podido constatar que este producto ejerce un efecto protector frente a la aterosclerosis mediante la prevención de la hipertensión, reducción de los niveles de colesterol plasmático, descenso de la hipertrigliceridemia, e inhibición tanto de la agregación plaquetaria como de la lipoperoxidación lipídica [6, 70, 84].

El bulbo de ajo en el cáncer

Entre las actuaciones de los productos derivados del bulbo de ajo destacan las relativas a sus acciones antitumorales, ya recogidas en el papiro de Ebers (1550 a.C.) [3], tal y como han puesto de manifiesto distintos estudios epidemiológicos [85-88] llevados a cabo en diversas áreas geográficas caracterizadas por el consumo alimentario de ajo. La incorporación a los cuestionarios de preguntas relativas a la cantidad y frecuencia de la ingesta de ajo, puso de manifiesto que el menor riesgo de padecer cáncer de estómago estaba en relación directa con el mayor consumo y frecuencia del mismo. Según la revisión de las publicaciones epidemiológicas sobre el papel del ajo en la prevención y progresión de procesos cancerosos llevada cabo por Fleischauer *et al.* [89], las evidencias derivadas de dichos estudios sugieren que el consumo de ajo tiene un efecto preventivo en el caso de los cánceres estomacales y colorrectales. Diferentes estudios de cohortes han puesto igualmente en evidencia la posibilidad de un efecto preventivo del ajo en la aparición de distintos tipos de cáncer (mama, laringe, próstata) [90-95].

Cáncer y derivados azufrados liposolubles del ajo

La alicina o dialil-tiosulfinato, es un compuesto azufrado liposoluble, formado tras la actuación de la enzima aliinasa a partir de su precursor inactivo, la aliína (S-alil-L-cisteín-sulfóxido) [96]. Muchos de los efectos beneficiosos sobre la salud del bulbo de ajo han sido atribuidos a este derivado azufrado capaz, según se ha demostrado en numerosos ensayos *in vitro*, de actuar en distintos pasos del proceso canceroso [97, 98], como consecuencia de lo cual se comporta como citostático, bloqueando la proliferación celular e induciendo la apoptosis o muerte celular programada. En este sentido, Prager-Khottorsky *et al.* [99] demostraron en un cultivo de fibroblastos que la adición al mismo de cantidades micromolares de alicina daba lugar a la rápida despolimerización de los microtúbulos. Además, en ensayos *in vitro* la alicina bloqueó la polimerización de la tubulina en forma dosis-dependiente. La adición al medio de cultivo de sustancias reductoras de los grupos tiólicos inhibió la actuación de la alicina, de lo cual se desprende que su efecto disruptor sobre los microtúbulos se encuentra directamente relacionada con su capacidad de unión con los grupos tiólicos de la tubulina.

Otros derivados azufrados del de ajo, DADS y DATS, componentes mayoritarios del producto denominado aceite de ajo (destilado de ajo), se encuentran también relacionados con su actividad quimioprotectora, en la cual participa su actuación sobre el metabolismo de los carcinógenos, debido a su efecto sobre distintas isoformas del citocromo P_{450}, implicado como es sabido en la función de detoxificación; así, dan lugar a un incremento en la isoforma 2B1 y un descenso en la 2E1; por otra parte, se ha demostrado que estos derivados azufrados actúan sobre enzimas detoxificantes, en particular sobre algunas de las implicadas en la fase II, tales como la glutation S-transferasa, UDP-glucuronil-transferasa y la quinona óxido reductasa NADPH-dependiente [100-102]. La actuación de DADS y DATS sobre el proceso de detoxificación en la fase II es debida, al menos en parte, a su capacidad de inducción de los enzimas que intervienen en esta fase, mediante una regulación al alza de la expresión de los genes responsables de la formación de la enzima glutation S-transferasa (GSTP). Este incremento en la expresión de la GSTP por el DADS y el DATS se encuentra relacionado tanto con la vía de la c-jun NH_2-cinasa (JNK) como con la de cinasa extracelular (ERK), como consecuencia de lo cual se vería incrementada la unión entre la proteína activadora nuclear 1 (AP-1) y el denominado elemento favorecedor GPE I, paso imprescindible para el incremento de la ex-

BY NC ND

presión de la GSTP [103]. Estos resultados sugieren un posible efecto protector de los alquil sulfuros y del DADS en la primera fase de la carcinogénesis, mediante la modulación de enzimas implicados en el metabolismo de los carcinógenos [104, 105].

La actuación sobre el proceso carcinogénico de los derivados azufrados presentes en el ajo, implica igualmente, tal y como ha sido puesto de manifiesto en ensayos *in vitro*, la inhibición de un paso inicial en la carcinogénesis por xenobióticos, como es el de la formación de aductos del ADN con distintas sustancias (derivados del antraceno, benzopireno, compuestos nitrosos, etc.) [106-108].

Por otra parte, los efectos de los derivados organosulfurados del bulbo de ajo sobre la proliferación celular y el crecimiento tumoral han sido demostrados en numerosos estudios realizados sobre distintas líneas celulares de carcinomas humanos (colónicas, pulmonares, de melanomas, prostáticas, etc.) [1]. En este sentido, ha sido puesta de manifiesto tanto para DADS como para DATS su interferencia en el ciclo celular [109, 110]: ambos derivados azufrados producen la detención del ciclo celular en la fase G2/M en líneas células tumorales humanas hepáticas y pulmonares. De igual forma, en investigaciones llevadas a cabo sobre líneas celulares prostáticas se puso de manifiesto que la adición de DATS al medio de cultivo provoca la detención del ciclo celular. Los ensayos realizados sobre una línea de células cancerosas nasofaríngeas humanas muestran la posibilidad de actuación de DADS sobre otras fases del ciclo celular, como es el caso de la fase S, efecto debido en parte a un incremento en la fosforilación de protein cinasa mitógena activada (MAPK) [111]. La capacidad de DADS para inhibir la proliferación celular ha sido relacionada igualmente con la inhibición de la p34cdc2 cinasa, la cual modula la progresión de las células desde la fase G2 hasta la fase M del ciclo celular [112].

La actuación antiproliferativa de los derivados azufrados del bulbo de ajo se encuentra relacionada con su efecto inductor de la apoptosis, tal y como se deduce de la observación de los cambios morfológicos celulares y/ o la fragmentación del ADN. Además, se ha podido establecer la relación entre la fragmentación del ADN tras adición de DADS al medio de cultivo y el incremento de calcio libre intracelular, como consecuencia de lo cual se podría producir una activación de las endonucleasas calcio-dependientes que conduciría a la apoptosis; ahora bien, este no sería el único mecanismo implicado en la muerte celular programada, ya que se ha observado en cultivos de células cancerosas de pulmón no microcíticas, a los que se adicionó DADS, que el aumento de células en estado apoptótico se encontraba precedido por la inducción de p53, mientras que cuando se adicionaba DAS se producía un aumento en la expresión de Bax (proteína proapoptótica) y disminución en la de Bcl-2 (proteína antiapoptótica) [113]. La actuación sobre Bcl-2 fue refrendada en ensayos realizados sobre cultivos de células humanas de neuroblastoma maligno, ya que los resultados obtenidos fueron indicativos de que ambos derivados azufrados pueden regular a la baja determinados factores antiapoptóticos, como la citada Bcl-2, a la vez que activan la cascada de la caspasa (FIGURA 4).

En la actuación de ambos derivados azufrados sobre el proceso apoptótico de las células cancerosas intervienen, además de los mecanismos ya indicados, la acetilación de las histonas, hecho que se puede considerar como decisivo en la activación transcripcional y que induce de forma selectiva la expresión de genes específicos para la detención del ciclo celular y posterior apoptosis. En este sentido, Arunkumar *et al.* [114], en ensayos sobre células cancerosas prostáticas humanas, han demostrado que el DADS induce la hiperacetilación de las histonas y la consiguiente apoptosis de forma dosis-dependiente.

En cuanto al ajoeno, los resultados obtenidos a partir de distintos ensayos *in vitro* e *in vivo*, muestran que este derivado azufrado actúa sobre las células cancerosas como antiproliferativo, mediante bloqueo de la fase G2/M del ciclo celular [115, 116] e inductor de la apoptosis. Su efecto apoptótico es debido a la inhibición de la Bcl-2, así como a la activación de la caspasa–3. Por otra parte, en un ensayo realizado sobre células de leucemia mieloide humana, se ha puesto de manifiesto que el ajoeno actúa sinérgicamente con quimioterápicos como la citarabina y la fludarabina, incrementando la tasa de células apoptóticas [117,118], con una importante disminución de la Bcl-2 y activación de la vía de las caspasas.

Cáncer y derivados azufrados hidrosolubles del ajo

Los principales derivados azufrados hidrosolubles del bulbo de ajo, la S-alilcisteina (SAC) y la S-alilmercaptocisteina (SAMC), así como el AGE en el que son componentes mayoritarios, han sido objeto de

BY NC ND

diversas investigaciones cuyo objeto era el poner de manifiesto su actividad quimiopreventiva en los procesos cancerosos. Al igual que en el caso de los alil sulfuros (DADS y DAS), las mayores evidencias de la posible aplicación en procesos cancerosos del AGE, SAC y SAMC provienen de los estudios *in vitro* realizados sobre distintas líneas de células cancerosas humanas; los resultados obtenidos hasta el momento muestran que tanto el AGE como sus principales componentes son altamente efectivos *in vitro* en la detención del ciclo celular y en la inducción de la apoptosis [119]. La S-alil-mercaptocisteína, al igual que el DADS, inhibe el crecimiento de células cancerosas colónicas mediante interferencia con la unión de los microtúbulos, lo cual dispara las vías de señalización de la caspasa-3 y de la cinasa c-Jun (JNK1) que desembocan en la apoptosis [120, 121]. En ensayos *in vitro*, se ha podido demostrar que SAC y SAMC inhiben la capacidad invasiva de distintas líneas celulares cancerosas, restaurando la expresión de la E-cadherina, cuya regulación a la baja es uno de los principales mecanismos implicados en los procesos metastásicos [122]. Los resultados procedentes de estudios *in vivo* realizados sobre ratones BALB/c a los que se implantaron células cancerosas prostáticas humanas, muestran que la administración de SAC (1 g/kg) produce una disminución significativa, en relación con el grupo control, de la proliferación de las células tumorales junto con un incremento de la apoptosis, al tiempo que se observa la recuperación de la E-cadherina; esta actuación sobre la E-cadherina se encuentra acompañada de un aumento en la expresión de la caspasa-3 y disminución de la reactividad de Bcl-2, efectos ambos que permiten justificar la actuación de SAC en la apoptosis. A las dosis empleadas, la administración de SAC no produjo alteraciones en la función hepática ni en la histología de los órganos vitales, no viéndose afectado el peso corporal de los animales tratados con este derivado azufrado del ajo. Estos datos son consistentes con los obtenidos en otros estudios *in vivo* en los que, además de ponerse de manifiesto el efecto quimiopreventivo de los principales componentes de AGE, no se observaron para los mismos signos aparentes de toxicidad [123, 124]. Por otra parte, mediante las experiencias *in vivo* realizadas con SAMC, presente al igual que SAC en los extractos de ajo envejecido, se ha puesto de manifiesto que la administración oral de SAMC a ratones en los que se había desarrollado experimentalmente un carcinoma prostático andrógeno-independiente, da lugar a una significativa disminución del crecimiento tumoral (71%, $p< 0,001$), a la vez que se observa un importante descenso en los procesos metastásicos (85,5%, $p= 0,001$). Esta disminución de las metástasis se encuentra acompañada de un descenso del 91% de células tumorales circulantes [125]. Además, se ha demostrado en estudios *in vivo* que tanto SAC como SAMC inhiben la formación de tumores inducida por diversos agentes carcinogénicos en forma dosis dependiente, a la vez que estimulan la actividad de la glutation S-transferasa (GSTP) hepática y colónica, enzima implicada en la detoxificación de distintos carcinógenos [126-128]. Este incremento de la actividad de la GSTP es consecuencia del aumento de la síntesis *de novo* de la enzima.

Al igual que ha sido demostrado para DAS y DADS, la SAC inhibe uno de los mecanismos implicados en la iniciación de la carcinogénesis, consistente en la formación de aductos entre las sustancias carcinogénicas y el ADN [108].

Otro mecanismo implicado en la en la prevención de los procesos cancerosos así como en la progresión de los mismos, es el relativo a la estimulación del sistema inmune. De acuerdo con los resultados obtenidos por Kyo *et al.* [130], la actividad antitumoral del AGE podría ser debida, al menos en parte, a su actuación estimulante sobre el sistema inmune, ya que induce el incremento de actividad de las células NK. Además, tanto el AGE como su fracción proteica incrementan la formación de linfocitos T y la actividad fagocitaria de los macrófagos peritoneales, así como la liberación de interleucina-2 (IL-2), factor de necrosis tumoral (TNF-α), e interferon γ .

Por otra parte, los efectos quimiopreventivos del ajo frente al cáncer de esófago y de estómago han sido relacionados con sus propiedades antibacterianas debido a que la inhibición del crecimiento de bacterias en la cavidad gástrica podría dar lugar a una disminución de la conversión de los nitratos en nitritos, con el consiguiente descenso en la formación de agentes carcinogénicos derivados de los nitritos [131].

A todos los mecanismos citados, hay que añadir el relativo a la actuación de distintos compuestos azufrados del ajo sobre los radicales libres de oxígeno y nitrógeno, responsables, al menos en parte, del inicio y progresión de distintos procesos.

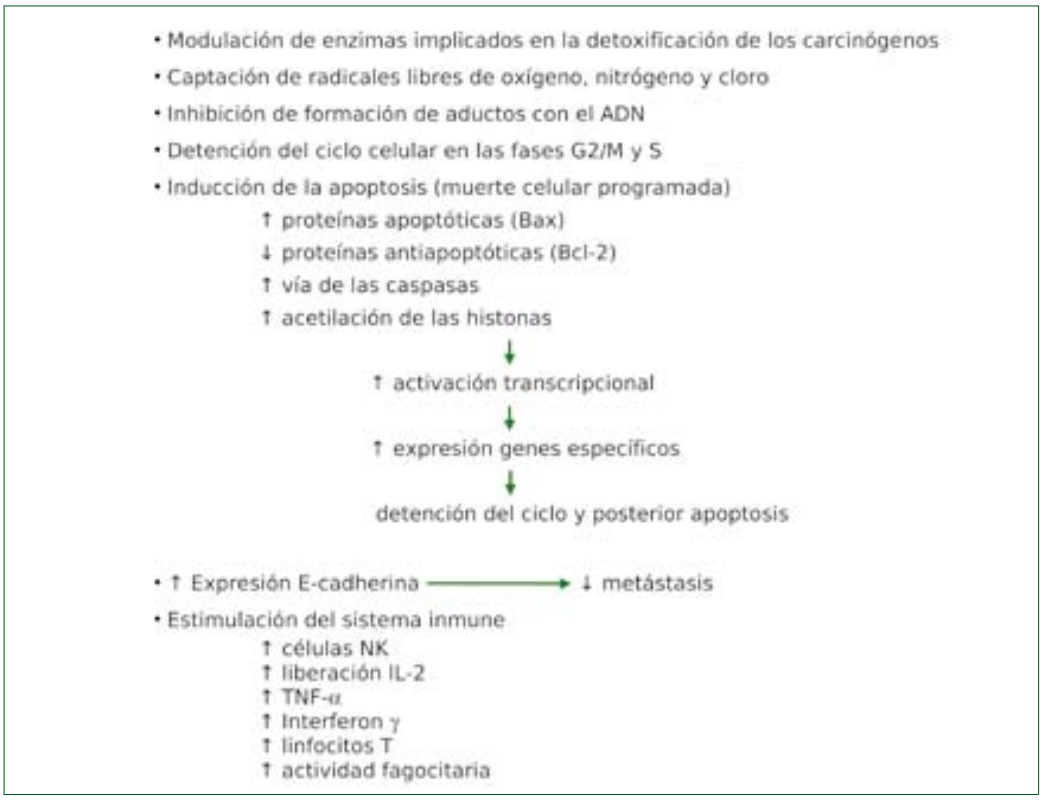


FIGURA 4. Principales mecanismos implicados en la actuación de distintos compuestos de *A. sativum* sobre los procesos tumorales. TNF-α: factor de necrosis tumoral α; IL-2: interleucina-2.

Ensayos clínicos

Los ensayos clínicos relativos a los efectos beneficiosos sobre los procesos cancerosos de los distintos productos y/ o compuestos obtenidos a partir de bulbo de ajo, son escasos. Los resultados obtenidos por Ishikawa *et al.* [132] tras la realización de un ensayo clínico aleatorizado, doble ciego, frente a placebo en el que tomaron parte 50 pacientes, afectados por distintos cánceres inoperables, muestran que la administración de AGE, si bien no mejora la calidad de vida de los participantes en el ensayo, previene la disminución de las células NK y de su actividad, lo cual sugeriría una mejoría en el estado inmunológico de los pacientes. Igualmente, esta actuación positiva sobre el estado inmunológico, ha sido observada en un ensayo realizado con pacientes afectados por cáncer de vejiga [133].

En un ensayo clínico piloto, aleatorizado, doble ciego, en el que tomaron parte 51 pacientes con adenomas colo-rectales [134], se constató al cabo de doce meses que en el subgrupo tratado solo con AGE (2,4 ml/día), había disminuido de forma significativa (p = 0,04) tanto el número como el tamaño de los adenomas, en relación con el subgrupo que tan solo había recibido 0,16 mg/día de AGE. Si bien estos resultados son prometedores en lo que se refiere a la prevención de la progresión de los adenomas colo-rectales, es imprescindible disponer de datos procedentes de ensayos clínicos con un mayor número de participantes. Igualmente son prometedores los resultados obtenidos en un ensayo clínico en el que participaron pacientes afectados por carcinoma basocelular de la piel, ya que la aplicación tópica de un preparado de ajoeno dio lugar a una respuesta clínica significativa [135].

Actividad antimicrobiana

El ajo ha sido empleado desde antiguo en el tratamiento de procesos infecciosos provocados por distintos agentes patógenos (bacterias, hongos y virus). Tanto la alicina como distintos extractos de ajo se muestran activos *in vitro* frente a un amplio espectro de gérmenes, entre ellas distintas especies de *Escherichia*, *Salmonella*, *Staphylococcus*, *Proteus*, *Clostridium*, *Leptotrichia* y *Mycobacterium* [136-138]. Es de destacar el hecho de que un extracto acuoso rico en alicina fue activo frente a una cepa

BY NC ND

Revista de Fitoterapia 2007; 7 (2): 131-151

de *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina [139]. El interés de esta observación radica en el incremento hospitalario de cepas de *S. aureus* resistentes al citado antibiótico, empleado sobre todo en el tratamiento de infecciones tópicas.

Por otra parte, un extracto acuoso de ajo inhibió el crecimiento de los cultivos de uno de los principales gérmenes causantes de la neumonía, el *Streptococcus pneumoniae*, mientras que *Klebsiella pneumoniae* fue menos sensible [140]. En ensayos realizados con distintos productos de bulbo de ajo (aceite de ajo, diversos extractos y algunos de sus componentes azufrados), se ha puesto de manifiesto la actividad *in vitro* de los mismos frente al *Helicobacter pylori* [141, 142], si bien, por el momento, en las pruebas llevadas a cabo sobre humanos no se ha observado correlación entre la presencia de *H. pylori* y el consumo de ajo [143].

Entre los componentes del bulbo de ajo implicados en su actividad biocida destaca la alicina [96]. En este sentido Ruddock *et al.* [144] demostraron que el efecto frente a *Neisseria gonorrhoeae*, *Staphylococcus aureus* y *Enterococcus faecalis* de los extractos acuosos obtenidos a partir de 19 preparados comerciales de bulbo de ajo, era dependiente del contenido en alicina de los mismos. La actuación de la alicina frente a las bacterias parece ser debida a su capacidad para reaccionar rápidamente con los grupos tiólicos de enzimas como las cisteina proteasas y alcohol dehidrogenasas, esenciales para la nutrición y el metabolismo de las bacterias [145].

En lo que se refiere a la actuación sobre distintos hongos y levaduras, los primeros trabajos en los que se describe la actividad antifúngica del ajo se remontan a 1951 [146]. Posteriormente se observó que los extractos acuosos de ajo afectaban *in vitro* el crecimiento de diversas especies de hongos [147, 148]. Así mismo se demostró la actividad de distintos preparados de los bulbo de ajo, en particular la alicina, frente a distintas especies de levaduras y hongos dermatofitos; esta actuación como antifúngicos ha sido atribuida a la inhibición de la síntesis *de novo* de los fosfolípidos de membrana como la fosfatidil colina [149]. Más recientemente, ha sido demostrada la actividad antifúngica del bulbo de ajo y sus derivados frente a distintos dermatofitos (*Microsporum canis*, *M. audounii*, *Trichophyton* spp, y *Epidermophyton floccosum*), con una eficacia comparable a la de los fármacos antifúngicos estándar [150].



FIGURA 1. Bulbo de ajo. Foto: B. Vanaclocha.

Sin embargo, la actividad antimicrobiana del bulbo de ajo no se encuentra restringida a la alicina. Así, en un reciente trabajo [151] se ha puesto de manifiesto la actividad antifúngica del AGE frente a un amplio espectro de hongos patógenos, entre ellos distintas especies del género *Candida*, como *C.albicans*, y *Malassezia furfur*, si bien se observa una cierta contradicción con los resultados procedentes de otro ensayo *in vitro*, en el que si bien se observó que el AGE es activo frente a distintas especies de *Staphylococcus* y *Streptococcus*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, *Shigella* spp y *Proteus* spp, no se apreció actividad frente a *Candida albicans* [152]. Por otra parte, la actuación sobre este hongo de otro derivado azufrado, el DADS (dialil disulfuro), parece ser debida a que reduce el contenido intracelular de glutation, con la consiguiente elevación de la concentración de especies reactivas de oxígeno en el interior de *C. albicans* [153].

En lo que se refiere a su actuación en micosis sobre humanos, existen trabajos realizados con ajoeno, en los que se demuestra la eficacia de este compuesto azufrado en el tratamiento de infecciones micóticas superficiales, como los distintos tipos de tiña (*tinea pedis*, *tinea corporis* y *tinea cruris*), causada por hongos dermatofitos. El efecto antifúngico del ajoeno parece ser debido a un conjunto de actuaciones tales como la inhibición de la síntesis de fosfatidil colina, alteración de la fluidez de la membrana, inhibición de la glutation reductasa, con incremento de los radicales libres y reacción del ajoeno con los grupos tiólicos de la cisteína de las proteínas de membrana. Según Ledezma y Apitz-Castro [2], el ajoeno puede ser considerado como un agente terapéutico en el tratamiento tópico de infecciones

Fuente: www.fitoterapia.net

fúngicas en la piel mediante un régimen de corta duración, con alta eficacia y baja tasa de recurrencia. Este mismo compuesto se ha mostrado activo *in vitro* frente al citomegalovirus humano [154]. Por otra parte, se ha demostrado en estudios realizados sobre voluntarios sanos, que la administración de 2 g/día de ajo fresco da lugar a un importante incremento en la producción de interferon , lo cual puede ser beneficioso en el caso de procesos virales o enfermedades proliferativas [155].

La consideración conjunta de los resultados obtenidos en los numerosos ensayos realizados con distintos preparados de ajo y/ o sus componentes, validan su empleo tradicional en el tratamiento de diversas afecciones infecciosas, resultando de particular interés los productos con un mayor contenido en alicina o ajoeno.

Otras acciones

Además de las investigaciones relativas a su actuación sobre la enfermedad cardiovascular, su posible papel como quimiopreventivo en procesos cancerosos y su actuación antimicrobiana, el bulbo de ajo está siendo objeto de estudios encaminados a poner de manifiesto su posible interés en otros ámbitos de la salud.

La drepanocitosis es una forma de anemia hemolítica, en la que se produce la deformación de los glóbulos rojos, de carácter hereditario, caracterizada por una alta morbi-mortalidad, y en la que se ha observado un incremento de la susceptibilidad al estrés oxidativo de los hematíes afectados. Los resultados obtenidos en un ensayo clínico, en el que participaron pacientes afectados por esta grave enfermedad y a los que se administró 5 mL AGE/día durante cuatro semanas, sugieren que el extracto envejecido de ajo puede tener un interés potencial como antioxidante en la drepanocitosis [156], a lo que se añade la actuación del AGE como estabilizador de la membrana en eritrocitos sanos [157].

Otro efecto observado en ensayos *in vivo*, es el relativo a su posible actuación sobre el peso corporal, ya que tras la administración a animales de experimentación de aceite del bulbo de ajo se observó una disminución en la ingesta y en el peso corporal [158]. Además, la administración a ratas de los sulfuros alílicos (DADS, DATS) del ajo dio lugar a un efecto termogénico [159].

Por otra parte, en modelos animales de aceleración del envejecimiento, se observó que la administración de AGE daba lugar a la mejoría en distintos parámetros (mejora de la memoria y del déficit en la atención, disminución del peso del cerebro y de los cambios atróficos en la zona frontal cerebral), además de producir un incremento en los niveles hipotalámicos de noradrenalina y de los valores de colin acetil transferasa [160, 161]. En otro ensayo realizado sobre ratones transgénicos con Alzheimer [162], se observó, en relación con los no tratados con AGE, una reducción en la formación del péptido β-amiloide, junto con una discreta mejoría en la capacidad de aprendizaje, memoria espacial y cambios conductuales. El conjunto de estos resultados sugieren un posible efecto beneficioso sobre los eventos relacionados con la progresión de las placas del β-amiloide, característica de la enfermedad de Alzheimer.

Otro aspecto a considerar, es el relativo a la posible actuación del ajo, en particular de su aceite, sobre el proceso osteoporótico. En este sentido, las experiencias realizadas por Mukherjee *et al.* [163-165], han puesto de manifiesto que la administración de aceite de ajo a ratas ovariectomizadas disminuye las tasas de algunos de los marcadores de pérdida de densidad ósea, como la hidroxiprolina y la fosfatasa alcalina tartrato-resistente (TRAP), así como de fosfatasa ácida tartrato-resistente (TRACP), enzima liberada por los osteoclastos, hecho que es indicativo de una menor actividad de los mismos. Además, en las ratas tratadas con aceite de ajo se observó un incremento en la tasa de transferencia intestinal de calcio.

Farmacocinética

Tan solo se dispone de datos procedentes de estudios sobre animales de experimentación, según los cuales la aliína, principal componente del bulbo de ajo íntegro, alcanza la máxima concentración en sangre a los 10 minutos de su administración, mientras que en el caso de la alicina el pico máximo se observa entre los 30-60 minutos. La principal vía de eliminación es la renal.

La S-alil-cisteína (SAC), administrada por vía oral a distintos animales de experimentación (ratones, ratas y perros), es rápidamente absorbida, con una alta biodisponibilidad. Al igual que los derivados liposolubles, se elimina fundamentalmente por vía renal en forma de derivados acetilados [82].

Seguridad

Toxicidad y efectos secundarios

BY NC ND

En términos generales, el consumo de ajo es considerado como seguro. Sin embargo, el consumo excesivo de derivados del bulbo de ajo, sobre todo de los que contienen como componentes principales compuestos azufrados liposolubles (alicina, DADS, DATS), puede ocasionar efectos indeseables tales como diarrea, irritación de las mucosas, sensación de ardor y molestias digestivas [7,166] . Por otra parte, un consumo crónico a dosis altas puede dar lugar a cambios hematológicos, entre los que se encuentran el descenso tanto en el número de eritrocitos como en los valores del hematocrito y en la concentración de hemoglobina [167], debido probablemente a un proceso hemolítico. En cuanto a posibles problemas relacionados con su actuación sobre la agregación plaquetaria, a pesar del amplio uso del bulbo de ajo y sus preparados, tan sólo se han descrito tres casos en los cuales se observó una alargamiento del tiempo de sangrado [82].

En cuanto a otros posibles efectos indeseables derivados del alto consumo de bulbos de ajo, hay que señalar el hecho de que en ensayos realizados sobre animales de experimentación se ha puesto de manifiesto que la administración de dosis equivalentes a 0,5 g de bulbo de ajo/kg de peso corporal/día da lugar a alteraciones hepáticas tras 28 días de tratamiento. A dosis inferiores (0,1 g y 0,25 g/kg/día) no se observaron modificaciones en la glándula hepática [168]. A concentraciones elevadas (1-4 ml/L) la administración de DATS es altamente citotóxica [11].

En cuanto al AGE, cuyos principales componentes son hidrosolubles, no se han observado efectos secundarios severos tras su administración a dosis terapéuticas, lo cual unido al amplio historial en el uso del bulbo de ajo, confirma la seguridad de las preparaciones de ajo y, en particular, del AGE, bien tolerado incluso en dosis altas [169]. Los resultados obtenidos en ensayos preclínicos avalan la escasa toxicidad de la SAC, al menos en animales de experimentación [124].

No se ha evidenciado capacidad mutagénica tras la aplicación del test de Ames [82], no existiendo datos sobre teratogenicidad.

Interacciones

En ensayos de distinta duración (4-19 días) se ha procedido al estudio de la posible incidencia de la administración de derivados de ajo en pacientes que estaban siendo tratados con antirretrovirales. Los resultados obtenidos son indicativos de una disminución de los niveles plasmáticos de los antirretrovirales, debido probablemente a la actuación de los compuestos azufrados sobre distintos isoenzimas del citocromo P_{450}, ya que la administración crónica en humanos de preparados de ajo da lugar a una activación de este sistema enzimático [170, 171].

En lo relativo a la posible potenciación de otros anticoagulantes, como la warfarina, los resultados procedentes de un ensayo clínico doble ciego, aleatorizado, controlado con placebo, realizado con pacientes tratados con warfarina y sometidos a monitorización, mostraron que la administración de AGE (5 ml/día) durante 12 semanas no dio lugar a ningún evento hemorrágico, lo cual hablaría a favor de la seguridad del AGE en pacientes tratados con warfarina y monitorizados; sin embargo son necesarios más estudios, con un mayor número de casos y durante un tiempo más prolongado, con el fin de confirmar la seguridad del AGE en pacientes tratados con anticoagulantes orales [172].

Indicaciones terapéuticas

De acuerdo con ESCOP [82], el bulbo de ajo y sus preparados se encuentran indicados en la prevención de la aterosclerosis y en el tratamiento de hiperlipidemias.

Se recomienda el equivalente a 6-10 mg de aliína (aproximadamente 3-5 mg de alicina) al día. Estas cantidades son las contenidas habitualmente en un diente de ajo ó en 0,5-1g de polvo de ajo desecado. En cuanto a los preparados elaborados con polvo de ajo desecado, las dosis aconsejadas son de 300 mg de dicho polvo [normalizado bien en aliína (1,3%), bien en alicina (0,6%)], 2-3 veces al día.

En el caso del extracto de ajo envejecido, la dosificación recomendada es de 7,2 g/día, dosis empleada en la mayoría de ensayos clínicos realizados con este preparado [173].

Dirección de contacto

Mª Concepción Navarro

Departamento de Farmacología
Facultad de Farmacia, Universidad de Granada
Campus Universitario de Cartuja
18071 Granada
cnavarro@ugr.es

Referencias bibliográficas

1. Bianchini F, Vainio H. *Allium* vegetables and organosulfur compounds: Do they help prevent cancer? Environ Health Perspect 2001; 109: 893-902.

2. Ledezma E, Apitz-Castro R. Ajoene, el principal compuesto activo derivado del ajo (*Allium sativum*), un nuevo agente anti-

fúngico. Rev Iberoam Micol 2006; 23: 75-80.

3. Block E. The chemistry of garlic and onions. Sci Am 1985; 252: 94-99

4. Thomson M, Al-Qattan KK, Bordia T, Ali M. Including garlic in the diet may help lower blood glucose, cholesterol and triglycerides. J Nutr 2006; 136: 800S-802S.

5. Jastrzebski Z, Leontowicz H, Leontowicz M, Namiesnik J, Zachwieja Z, Barton H, et al. The bioactivity of processed garlic (*Allium sativum* L.) as shown *in vitro* and *in vivo* studies on rats. Food Chem Toxicol 2007; 45: 1626-1633.

6. Dillon SA, Burmi RS, Lowe GM, Billington G, Rahman K. Antioxidant properties of aged garlic extract: an *in vitro* study incorporating human low density lipoprotein. Life Sci 2003; 72: 1583-1594.

7. Amagase H, Petesch B, Matsuura H, Kasuga S, Itakura Y. Intake of garlic and its bioactive components. J Nutr 2001; 131: 955S-962S.

8. Ahmad MS, Pischetsrieder M, Ahmed N. Aged garlic extract and S-allyl cysteine prevent formation of advanced glycation products. Eur J Pharmacol 2007; 561: 32-38.

9. United States Pharmacopeia – National Formulary (USP25 NF20). Garlic Fluid Extract, 2002. Rockville, Maryland: United States Pharmacopeial Convention; 2002, p. 2553.

10. Rahman K, Lowe GM. Garlic and cardiovascular disease: A critical review. J Nutr 2006; 136: 736S-740S.

11. Yeh YY, Yeh SM. Garlic reduces plasma lipid by inhibiting hepatic cholesterol and triacylglycerol synthesis. Lipids 1994; 29: 319-329.

12. Yeh YY, Liu L. Cholesterol-lowering effect of garlic extracts and organosulfur compounds: human and animal studies. J Nutr 2001; 131: 989S-993S.

13. Gebhardt R. Inhibition of cholesterol biosynthesis by a water-soluble garlic extract in primary culture of rat hepatocytes. Arzneimittelforschung 1991; 41:800-804.

14. Gebhardt R, Beck H. Differential inhibitory effects of garlic-derived organosulfur compounds on cholesterol biosynthesis in primary rat hepatocytes. Lipids 1996; 31: 1269-1276.

15. Liu L, Yeh YY. Inhibition of cholesterol biosynthesis by organosulfur compounds derived from garlic. Lipids 2000; 35: 197-203.

16. Liu L, Yeh YY. S-alk (en)yl cysteines of garlic inhibit cholesterol synthesis by deactivating HMG-CoA reductase in cultured rat hepatocytes. J Nutr 2002; 132: 1129-1134.

17. Campbell JH, Efendy JL, Smith NJ, Campbell GR. Molecular basis by which garlic suppresses atherosclerosis. J Nutr 2001; 131: 1006-1009S.

18. Steiner M, Li W. Aged garlic extract, a modulator of cardiovascular risk factors: a dose-finding study on the effects of AGE on platelet functions. J Nutr 2001; 131: 1980S-1984S.

19. Srivastava KC. Effects of aqueous extracts of onion, garlic and ginger in platelet aggregation and metabolism of arachidonic acid in the blood vascular system: in vitro study. Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids 1984; 13: 227-235.

20. Allison GL, Lowe GM, Rahman K. Aged garlic extract and its constituents inhibit platelet aggregation through multiple mechanisms. J Nutr 2006; 136: 782S-788S.

21. Srivastava KC, Tyagi OC. Effects of a garlic-derived principle (ajoene) on aggregation and arachidonic acid metabolism in human blood platelets. Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids 1993; 49: 587-595.

22. Apitz-Castro R, Escalante J, Vagase R, Jain MK. Ajoene, the antiplatelet principle of garlic, synergistically potentiates the antiaggregatory action of prostacyclin. Thromb Res 1986; 42: 303-311.

23. Fukao H, Yoshida H, Tazawa YI, Hada T. Antithrombotic effects of odorless garlic powder both *in vitro* and *in vivo*. Biosci Biotechnol Biochem 2007; 71: 84-90.

24. Ide N, Lau BHS. Garlic compounds minimize intracellular oxidative stress and inhibit nuclear factor-kappa B activation. J Nutr 2001; 131: 1020S-1026S.

25. Hodge G, Hodge S, Han P. *Allium sativum* (garlic) suppresses leukocyte inflammatory production *in vitro*: potential therapeutic use in treatment of inflammatory bowel disease. Cytometry 2002; 48: 209-215.

26. Siegel G, Nuck R, Schnalke F, Michel F. Molecular evidences for phytopharmacological K channel opening by garlic in human vascular smooth muscle cell membranes. Phytother Res 1998; 12: S149-S151.

27. Suetsuna K. Isolation and characterization of angiotensin 1 converting enzyme inhibitor peptides derived from *Allium sativum* (garlic). J Nutr Biochem 1998; 9: 415-419.

28. Banerjee SK, Dinda AK, Manchanda SC, Maulik SK. Chronic garlic administration protects heart against oxidative stress induced by ischemic reperfusion injury. BMC Pharmacol 2002; 2:16.

29. Liu HG, Xu LH. Garlic oil prevents tributyltin-induced oxidative damage in vivo and in vitro. J Food Prot. 2007; 70: 716-721.

30. Wei Z, Lau BHS. Garlic inhibits free radical generation and augments antioxidant enzyme activity in vascular endothelial cells. Nutr Res 1998; 18: 61-70.

Lau BHS. Effect of an odor-modified garlic preparation on blood lipidis. Nutr Res 1987; 7:139-149.

31. Kim KM, Chun SB, Koo MS, Choi WJ, Kim TW, Kwon YG, et al. Differential regulation of NO availability from macrofagues and endothelial cells by the garlic component S-allyl cysteine. Free Radical Biol Med 2001; 30: 747-756.

32. Cheng LY. The antioxidant properties of garlic compounds: allyl cysteine, alliin, allicin, and allyl disulfide. J Med Food 2006; 9: 205-213.

33. Belloir C, Singh V, Daurat C, Siess MH, Le Bon AM. Protective effects of garlic sulfur compounds against DNA damage induced by direct- and indirect-acting genotoxic agents in HepG2 cells. Food Chem Toxicol 2006; 44: 827-834.

34. Morihara N, Ide , Sumioka I, Kyo E. Aged garlic extract inhibits peroxynitrite-induced hemolysis. Redox Rep 2005; 10: 159-165.

35. Pedraza – Chaverri J, Arriaga-Noblecía G, Medina-Campos ON. Hypochlorous acid scavenging capacity of garlic. Phytother Res 2007; 21: 884-888.

36. Chang MLW, Johnson MA. Effect of garlic on carbohydrate metabolism and lipid synthesis in rats. J Nutr 1980; 110: 931-936.

37. Carson JF. Chemistry and biological properties of onion and garlic. Food Rev Internat 1987; 3: 71-103.

38. Augusti KT. Therapeutic values of onion (*Allium cepa*) and garlic (*Allium sativum*). Indian J Exp Biol 1996; 34: 634-640.

BY NC ND

39. Eidi A, Eidi M, Esmaeili E. Antidiabetic effect of garlic (*Allium sativum* L.) in normal and streptozotocin-induced diabetic rats. Phytomes 2006; 13: 624-629.

40. Sheweita SA, El-Gabar MA, Bastawy M. Carbon tetrachloride-induced changes in the activity of phase II drug-metabolizing enzyme in the liver of male rats: Role of the antioxidants. Toxicology 2001; 165: 217-224.

41. Chi MS, Koh ET, Stewart TJ. Effect of garlic on lipid metabolism in rats fed cholesterol or lard. J Nutr 1982; 112: 241-248.

42. Ali M, Al-Qattan KK, Al-Enezi F, Khanafer RMA, Mustafa T. Effect of allicin from garlic powder on serum lipids and blood pressure in rats fed with a High cholesterol diet. Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids 2000; 62: 253-259.

43. Gorinstein S, Leontowicz M, Leontowicz H, Jastrzebski Z, Drzewiecki J, Namiesnik J, et al. Dose-dependent influence of commercial garlic (*Allium sativum*) on rats fed cholesterol-containing diet. J Agric Food Chem 2006; 54: 4022-4027.

44. Banerjee SK, Maulik SK. Effect of garlic on cardiovascular disorders: a review. Nutr J 2002; 1:4 Accedido on line 24-07-2007.

45. Efendy JL, Simmons DL, Campbell GR, Campbell JH. The effect of aged garlic extract, "Kyolic", on the development of experimental atherosclerosis. Atherosclerosis 1997; 132: 37-42.

46. Kojuri J, Vosoughi AR, Akrami M. Effects of Anethum graveolens and garlic on lipid profile in hyperlipidemic patients. Lipids Health Disease. 2007. http//www.lipidworld.com/content/6/1/5. Accedido 23-07-2007

47. Chan KC, Hsu CC, Yin MC. Protective effect of three diallyl sulfides against glucose induced erythrocyte and platelet oxidation, and ADP-induced platelet aggregation: Thromb Res 2003; 108 : 317-322.

48. Ali M, Thomson M, Alnaqeeb MA, al-Hassan JM, Khater SH, Gomes A. Antithrombotic activity of garlic: its inhibition of the synthesis of thromboxane-B2 during infusion of arachidonic acid and collagen in rabbits. Prostaglandins Leukot Essen tatty Acids. 1990; 41: 95-99.

49. Ohaeri OC, Adoga GI. Anticoagulant modulation of blood cells and platelet reactivity by garlic oil in experimental diabetes mellitus. Biosci Rep 2006; 26: 1-6.

50. Makheja AN, Bailey JM. Antiplatelet constituents of garlic and onion. Agents action. 1990; 29: 360-363.

51. Son EW, Mo SJ, Rhee DK, Pyo S.Inhibition of ICAM-1 expression by garlic component, allicin, in gamma-irradiated human vascular endothelial cells via downregulation of the JNK signalling pathway. Int Immunopharmacol 2006; 6: 1788-1795.

52. Ledezma E, Apitz-Castro R, Cardier J. Apoptotic and antiadhesion effect of ajoene, a garlic derived compound, on the murine melanoma B16F10 cells: possible role of caspase-3 and tha alpha(4)beta(1) integrin. Cancer lett 2004; 206: 35-41.

53. Benatuil L, Apitz-Castro R , Romano E. Ajoene inhibits tha activation of human endotelial cells induced by porcine cells: implications for xenotransplantation. Xenotransplantation 2003; 10: 368-373.

54. Sela U, Ganor S, Hecht I, Brill A, Miron T, Rabinkov A, et al. Allicin inhibits SDF-1alpha –induced T cell interactions with fibronectin and endothelial cells by down-regulatign cytoskeleton rearrangement, Pyk-2 phosphorylation and VLA-4 expression. Immunology 2004; 111: 391-399.

55. Pittler MH, Ernst E. Complementary therapies for peripheral arterial disease: systematic review. Atherosclerosis 2005; 181: 1-7.

56. Ho SE, Ide N, Lau BH. S-allyl cysteine reduces oxidant load in cells involved in the atherogenic process. Phytomedicine 2001; 8:39-46.

57. Vaziri ND, Ni Z, Ovesi F. Upregulation of renal and vascular nitric oxide synthase in young spontaneously hypertensive rats. Hypertension 1998; 31: 1248-1254.

58. Morihara N, Sumioka I, Moriguchi T, Uda N, Kyo E. Aged garlic extract enhances production of nitric oxide. Life Sci 2002; 71: 509-517.

59. Pedraza-Chaverri J, Tapia E, Medina–Campos O, Granados MA, Franco M. Garlic prevents hipertensión induced by chronic inhibition of nitric oxide síntesis. Life Sci 1998; 62: 71-77.

60. Al-Qattan KK, Thomson M, Al-Mutawa´a S, Al-Hajeri D, Drobiova H, Ali M. Nitric oxide mediates the blood- pressure lowering effect of garlic in the rat two-kidney, one-clip model of hypertension. J Nutr 2006; 136: 774S-776S.

61. Mukherjee S, Banerjee SK, Maulik M, Dinda AK, Talwar KK, Maulik SK. Protection against acute adriamycin-induced cardiotoxicity by garlic: role of endogenous antioxidants and inhibition of TNF-α expression. BMC Pharmacol 2003; 3: 16.

62. Pedraza-Chaverri J, Maldonado PD, Barrera D, Ceron A, Medina-Campos ON, Hernández-Pando R. Protective effects of diallyl disulfide on oxidative stress and nephrotoxicity induced by gentamicin in rats. Mol Biochem 2003; 254 125-130.

63. Pari L, Murugavel P, Sitasawad SL, Sandeep Kumar K. Cytoprotective and antioxidant role of diallyl tetrasulfide on cadmium induced renal injury: a *in vivo* and *in vitro* study. Life Sci 2007; 80: 650-658.

64. Kodai S, Takemura S, Minamiyama Y, Hai S, Yamamoto S, Kubo S, et al. S-allyl cysteine prevents CCl_4 –induced liver injury in rats. Free Rad Res 2007; 41: 489-497.

65. Alder R, Lookinland S, Berry JA, Williams MA. Asystematic review of the effectiveness of garlic as an atihyperlipidemic agent. J Am Acad Nurse Pract 2003; 15: 120-129.

66. Silagy C, Neil A. Garlic as a lipid lowering agent: A meta-analysis. J R Coll Physicians Lond 1994; 28: 39-45.

67. Stevinson C, Pittler MH, Ernst E. Garlic for treating hypercholesterolemia. A meta-analysis of randomised clinical trials. Ann Intern Med 2000; 19: 420-429.

68.Ackermann RT, Mulrow CD, Ramírez G, Gardner CD, Morbidoni L, Lawrence VA. Garlic shows promise for improving some cardiovascular risk factors. Arch Intern Med 2001; 161:813-824.

69. Rahman K. Garlic and aging. New insights into an old remedy. Ageing Res Rev 2003; 2: 39-56.

70. Banerjee SK, Maulik SK. Effect of garlic on cardiovascular disorders: a review Nutr J. 2002; 1: 4-14.

71. Bordia A, Verma SK, Srivastava KC. Effect of garlic (*Allium sativum*) on blood lipids, blood sugar , fibrinogen and fibrinolytic activity in patients with coronary artery disease. Prost Leukot Essent Fatty Acids 1998; 58: 257-263.

72. Dawhan V, Jain S. Garlic supplementation prevents oxidative DNA damage in essential hypertension. Mol Cell Biochem 29005; 275: 85-94.

73. Munday JS, James KA, Fray LM, Kirkwood SW, Thompson KG. Daily supplementation with aged garlic extract, but not raw

garlic protects low density lipoprotein against in vitro oxidation. Atherosclerosis 1999; 143: 399-404.

74. Dillion SA, Lowe GM, Billington D, Rahman K. Dietary supplementation with aged garlic extract reduces plasma and urine concentrations of 8-isoprostaglandin $F_{2\alpha}$ in smoking and non-smoking men and women. J Nutr 2002; 132: 168-171.

75. Durak I, Kavutcu M, Aytac B, Avci A, Devrim E, Ozbek H, Ozturk HS. Effects of garlic extract consumption on blood lipid and oxidant/antioxidant parameters in humans with high blood cholesterol. J Nutr Biochem 2004a; 15: 373-377.

76. Durak I, Aytac B, Atmaca Y, Devrim E, Avci A, Erol C, Oral D. Effects of aged garlic extract consumption on plasma and erythrocyte antioxidant parameters in atherosclerotic patients. Life Sci 2004b; 75: 1959-1966.

77. Williams MJA, Sutherland HF, McCormick MP, de Jong DJ, de Jong S. Aged garlic extract improves endothelial function in men with coronary artery disease. Phytother Res 2005; 19: 314-319.

78. Breithaupt-Grogler K, Ling M, Boudoulas H, Belz GG, Heiden M, Wenzel E, Gu LD. Protective effect of chronic garlic intake on elastic properties of aorta in the elderly. Circulation. 1997; 96: 2649-2655.

79. Anim-Nyame N, Sooranna SR, Johson MR, Gamble J, Steer PJ. Garlic supplementation increases peripheral blood Flow: a role for interleukin-6? J Nutr Biochem 2004; 15: 30-36.

80. Budoff MJ, Takasu J, Flores FR, Nihara Y, Lu B, Lau BH, Rosen RT, Amagase H. Inhibiting progression of coronary calcification using Aged Garlic Extract in patients receiving statin therapy: a preliminary study. Prev Med 2004; 30: 985-991.

81. Budoff M. Aged garlic extract retards progression of coronary artery calcification. J Nutr 2006; 136: 741S-744S.

82. ESCOP. ESCOP Monographs. The Scientific Foundation for Herbal Medicinal Products. 2ª ed. Stuttgart: George Thieme Verlag, 2003.

83. Sobenin IA, Nedosugova LV, Filatova LV, Balabolkin MI, Gorchakova TV, Orekhov AN. Metabolic effects of time-released garlic powder tablets in type 2 diabetes mellitus: the results of double-blinded placebo-controlled study. Acta Diabetol 2007; DOI 10.1007/s00592-007-0011-x. Accedido on line 10-09-2007.

84. Rahman K, Billington D. Dietary supplementation with aged garlic extract inhibits ADP-induced platelet aggregation in Humans. J Nutr 2000; 130: 2662-2665.

85. Buiatti E, Palli D, Decarli A, Amadori D, Avellini C, Bianchi S, Biserni R, Cipriani F, Cocco P, Giacosa A. A case-control study of gastric cancer and diet in Italy . Int J Cancer 1989; 44: 611-616.

86. You W, Blot WJ, Chang Y, Ershow A, Yang ZT, An Q, Henderson BE, Fraumeni JF, Wang T. *Allium* vegetables and reduced risk of stomach cancer. J Natl Cancer Inst 1989: 81:162-164.

87. Steinmetz KA, Kushi LH, Bostick RM, Folsom AR, Potter JD. Vegetables, fruit, and colon cancer in the Iowa Women´s Health Study. Am J Epidemiol 1994; 1309: 1-15.

88. Galeone C, Pelucchi C, Levi F, Negri E, Franceschi S, Talamini R, Giacosa A La Vecchia C. Onion and garlic use and human cancer. Am J Clin Nutr 2006; 84: 1027-1032.

89. Fleischauer AT, Arab L. Garlic and cancer: A critical review of the epidemiologic literature. J Nutr 2001; 131: 1032S-1040S.

90. Katsouyanni K, Trichopoulos D, Boyle P, Xirokachi E, Trichopoulou A, Lisseos B, Vasilaros S, MacMahon B. Diet and breast cancer: a case-control study in Greece. Int J Cancer 1986; 17: 815-829.

91. Levi F, La Vecchia C, Gulie C, Negri E. Dietary factors and breast cancer risk in Vaud, Switzerland. Nutr Cancer 1993; 19: 327-335.

92. Challier B, Perarnau JM, Viel JF. Garlic, onion and cereal fibre as protective factors for breast cancer: a French case-control study. Eur J Epidemiol 1998; 14: 737-747.

93. Dorant E, van den Brandt PA, Goldbohm RA. *Allium* vegetable consumption, garlic supplement intake , and female breast carcinoma incidence. Breast Cancer Res Treat 1995; 33: 163-170.

94. Zheng W, Blot WJ, Shu XO, Gao YT, Ji BT, Ziegler RG, Fraumeni JF Jr. Diet and other risk factors for laryngeal cancer in Shangai, China. Am J Epidemiol 1992; 136: 178-191.

95. Key TJ, Silcocks PB, Davey GK, Appleby PN, Bishop DT. A case-control study of diet and prostate cancer. Br J Cancer 1997; 76: 678-687.

96. Cavallito CJ, Bailey JH. Allicin, the antibacterial principle of *Allium sativum*. I. Isolation, physical properties and antibacterial action. J Am Chem Soc 1944; 66: 1950-1952.

97. Rabinkov A, Miron T, Mirelman D, Wilchek M, Glozman S, Yavin E, Weiner L. S-alilmercaptoglutathione: The reaction product of allicin with glutathione possesses SH-modifying and antioxidant properties. Biochim Biophys Acta 2000; 1499: 144-153.

98. Miron T, Rabinkov A, Mirelman D, Wilchek M, Weiner L. The mode of action of allicin: its ready permeability through phospholipid membranes may contribute to its biological activity. Biochim Biophys Acta 2000; 1463: 20-30.

99. Prager- Khoutorsky M, Goncharov I, Rabinkov A, Mirelman D, Geiger B, Bershadsky AD. Allicin inhibits cell polarization, migration and division via its direct action on microtubules. Cell Motil Cytoskeleton 2007; www.wilwyinterscience.com.

100. Guyonnet D, Belloir C, Suschetet M, Siess h, e Bon AM. Mecahnisms of protection against aflatoxin B_1 genotoxicity in rtas treated by organosulfur compounds from garlic. Carcinogenesis 2002; 23: 1335-1351.

101. Hu X, Benson PJ, Srivastava SK, Mack LM, Xia H, Gupta V, Zaren HA, Singh SV. Glutathione S-transferases of female A/J mouse liver and forestomach and their differential induction by anti-carcinogenic organosulfides from garlic. Arch Biochem Biophys 1996; 336: 199-214.

102. Reddy BS, Rao CV, Rivenson A, Kelloff G. Chemoprevention of colon carcinogenesis by organosulfur compounds. Cancer Res 1993; 53: 3493-3498.

103. Tsai CW, Chen HW, Yang JJ, Sheen LY, Lii CK. Diallyl disulfide and diallyl trisulfide Up-regulate the expression of the π class of glutathione S-transferase via an AP-1 dependent pathway. J Agric Food Chem 2007; 55: 1019-1026.

104. Siess MH, Le Bon MC, Canivenc-Lavier MC, Suschetet M. Modification of hepatic drug-metabolizing enzymes in rats treated with alkyl sílfides. Cancer Lett 1997; 120: 195-201.

105. Munday R, Munday CM. Low doses of diallyl sulfide, a compound derived from garlic, increase tissue activities of quinone reductase and glutathione transferase in the gastrointestinal tract of the rat. Nutr Cancer 1999; 34: 42-48.

106. Liu J, Lin RI, Milner JA. Inhibition of 7,12-dimethyl-benz [*a*]

BY NC ND

anthracene – induced mammary tumors and DNA adducts by garlic powder. Carcinogenesis 1992; 13: 1847-1851.

107. Shenoy NR, Choughuley AS. Inhibitory effect of diet related sulphydryl compounds in the formation of carcinogenic nitrosamines. Cancer Lett 1992; 65: 227-232.

108. Hageman GJ, van Herwijnen MH, Schilderman PA, Rhijsnburger EH, Moonen EJ, Kleinjans JC. Reducing effects of garlic constituents on DNA adduct formation in human lymphocytes *in vitro*. Nutr Cancer 1997; 27: 177-185.

109. Wu XJ, Kassie F, Mersch-Sundermann V. The role of reactive oxygen species (ROS) production on diallyl sulfide (DADS) induced apoptosis and cell cycle arrest in human A549 lung carcinoma cells. Mutat Res 2005; 579: 115-124.

110. Xiao D, Herman –Antosiewicz A, Antosiewicz J, Xiao H, Brisson M, Lazo JS, Singh SV. Diallyl trisulfide-induced G_2 –M phase cell cycle arrest in human prostate cancer cells is caused by reactive oxygen species-dependent destruction and hyperphosphorylation of Cdc25C. Oncogene 2005; 24: 6256-6268.

111. Zhang YW, Wen J, Xiao JB, Talbot SG, Li GC, Xu M. Induction of apoptosis and transient increase of phosphorylated MAPKs by diallyl disulfide treatment in human nasopharyngeal carcinoma CNE2 cells. Arch Pharm Res 2006; 29: 1125-1131.

112. Knowles LM, Milner JA. Diallyl disulfide inhibits $p34^{cdc2}$ kinase activity through changes in complex formation and phodhorylation. Carcinogenesis 2000; 21: 1129-1134.

113. Hong YS, Ham YA, Choi JH, Kim J. Effects of allyl sulfur compounds and garlic extract on the expression of Bcl-s, Bax, and p53 in non small cell lung cancer cell lines. Exp Mol Med 2000; 32: 127-134.

114. Arunkumar A, Radhakrishnan V, Gunadharini N, Krishnamoorthy G, Arunakaran J. Induction of apoptosis and histone hyperacetylation by diallyl disulfide in prostate cancer cell line PC-3. Cancer Lett 2006; 251: 59-67.

115. Li M, Cui JR, Ye Y, Min JM, Zhang LH, Wang K. Anti-tumour activity of *Z*-ajoene, a natural compound purified from garlic: antimitotic and microtubule-interaction properties. Carcinogenesis 2002a; 23: 573-579.

116. Li M, Min JM, Cui JR, Zhang LH, Wang K, Valette A, et al. *Z*-ajoene induces apoptosis of HL-60 cells: involvement of bcl-2 cleavage. Nutr Cancer 2002b; 42:241-247.

117. Ahmed N, Laverick L, Sammons J, Zhang H, Maslin DJ, Hassan HT. Ajoene, a garlic-derived natural compound, enhances chemotherapy induced apoptosis in human myeloid leukaemia CD34-positive resistant cells. Anticancer Res. 2001; 21: 3519-3523.

118. Hassan HT. Ajoene (natural garlic compound): a new antileukaemia agent for AML therapy. Leuk Res 2004; 28: 667-671.

119. Chu Q, Lee ATW, Tsao SW, Wang X, Wong YC. S-allylcysteine, a water-soluble garlic derivative, suppresses the growth of a human androgen-independent prostate cancer xenograft, CWR22R, under in vivo conditions. BJU Int 2007; 99: 925-932.

120. Xiao D, Pinto JT, Soh JW, Deguchi A, Gundersen GG, Palazzo AF, et al. Induction of apoptosis by the garlic-derived compound S-allylmercaptocysteine (SAMC) is associated with microtubule depolymerization and c-Jun NH (2)-terminal kinase 1 activation. Cancer Res 2003; 63: 6825-6837.

121. Xiao D, Pinto JT, Gundersen GG, Weinstein IB. Effects of a series of organosulfur compounds on mitotic arrest and induction of apoptosis in colon cancer cells. Mol Cancer Ther 2005; 4: 1388-1398.

122. Chu Q, Ling MT, Feng H, Cheung HW, Tsao SW, Wang X, et al. A novel anticancer effect of garlic derivatives: inhibition of cancer cell invasion thtough restoration of E-cadherin expression. Carcinogenesis 2006; 27: 2180-2189.

123. Velmurugan B, Mani A, Nagini S. Combination of S-allylcisteyne and lycopene induces apoptosis by modulating Bcl-2, Bax, Bim and caspases during experimental gastric carcinogénesis. Eur J Cancer Prev 2005; 14: 387-393.

124. Kodera Y, Suzuki A, Imada O, Kasuga S, Sumioka I, Kanezawa A, Taru N, Fujikawa M, Nagae S, Masamoto K, Maeshige K, Ono K. Physical, chemical and biological properties of S-allyl-cisteyne, an amino acid derived from garlic. J Agric Food Chem. 2002; 50: 622-632.

125. Howard EW, Ling MT, Chua CW, Cheung HW, Wang X, Wong YC. Garlic-derived S-allylmercaptocysteine is a novel in vivo antimetastatic agent for androgen-independent prostate cancer. Clin Cancer Res 2007; 13: 1847-1856.

126. Ninisho H, Iwashima A, Itakura Y, Matsuura H, Fuwa T. Antitumor-promoting activity of garlic extracts. Oncology 1989; 46: 277-280.

127. Sumiyoshi H, Wargovich MJ. Chemoprevention of 1,2-dimethylhydrazine-induced colon cancer in mice by naturally occurring organosulfur compounds. Cancer Res 1990; 50: 5084-5087.

128. Kyo E, Uda N, Suzuki A, Kakimoto M, Ushijima M, Hasuga S, Itakura Y. Immunomodulation and antitumor activities of aged garlic extract. Phytomed 1998; 5: 259-267.

129. Lau BH, Yamasaki T, Gridley DS. Garlic compounds modulate macrophage and T-lymphocyte functions: Mol Biother 1991; 3: 103-107.

130. Morioka N, Sze LL, Morton DL, Irie RF. A protein fraction from aged garlic extract enhances cytotoxicity and proliferation of human lymphocytes mediated by interleukin-2 and concanavalin A. Cancer Immunol Immunother 1993; 37: 316-322.

131. Mei X, Wang MC, Xu HX, Pann XY, Gao CY, Han N, Fu MY. Garlic and gastric cancer: the effect of garlic on nitrite and nitrate in gastric juice. Acta Nutr Sin 1982; 54: 763-765.

132. Ishikawa H, Saeki T, Otani T, Suzuki T, Shimozuma K, Nishino H, Fukuda S, Morimoto K. J Nutr 2006; 136: 816S-820S.

133. Lamm DL, Riggs DR. The potential application of *Allium sativum* (garlic) for treatment of bladder cancer. Urol Clin North Am 2000; 27: 157-162.

134. Tanaka S, Haruma K, Yoshihara M, Kajiyama G, Kira K, Amagase H, Chayama K. Aged garlic extract has potential suppressive effect on colorectal adenomas in Humans. J Nutr 2006; 136: 821S-826S.

135. Tilli CMLJ, Stavast-Kooy AJW, Vuerstaek JD, Thissen MR, Krekels GA, Ramaekers FC, et al. The garlic derived organosulfur component ajoene decreases basa cell carcinoma tumour size by inducing apoptosis. Arch Dermatol Res 2003; 295: 117-123.

136. Elnima EI, Ahmed SA, Mekkawi AG, Mossa JS. The antimicrobial activity of garlic and onion extracts. Pharmazie 1983; 38.747-748.

137. Bakri IM, Douglas CWI. Inhibitory effect of garlic extract on oral bacteria. Archiv Oral Biol 2005; 50: 645-651.

138. Gomaa NF, Hashish MH. The inhibitory effect of garlic (*Allium sativum*) on growth of some microorganisms. J Egypt Public Health Assoc 2003; 78: 361-372.

139. Cutler RR, Wilson P. Antibacterial activity of a new, stable, aqueous extract of allicin against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Br J Biomed Sci 2004; 61: 71-74.

140. Dikasso D, Lemma H, Urga K, Debella A, Addis G, Tadele A, et al. Investigation on the antibacterial properties of garlic (*Allium sativum*) on pneumonia causing bacteria. Ethiop Med J. 2002; 40: 241-249.

141. Jonkers D, van de Broek L, van Doren I, Thijs C, Dorant E, Hageman G, Stobberingh E. Antibacterial effect of garlic and omeprazole on *Helicobacter pylori*. Antimicrob Chemother 1999; 43: 837-839.

142. O´Gara EA, Hill DJ, Maslin DJ. Activities of garlic oil, garlic powder, and their diallyl constituents against *Helicobacter pylori*. Appl Environ Microbiol 2000; 66: 2269-2273.

143. Sinchi K, Ishii H, Imanishi K, Kono S. Relationship of cigarette smoking, alcohol use , and dietary habits with *Helicobacter p*ylori infection in Japanese men. Scand J Gastroenterol 1997; 32: 651-655.

144. Ruddock PS, Liao M, Foster BC, Lawson L, Arnason JT, Dillon JA. Garlic natural health products exhibit variable constituent levels and antimicrobial activity against *Neisseria gonorrhoeae, Staphylococcus aureus* and *Enterococcus faecalis*. Phytother Res 2005; 19: 327-334.

145. Rabincov A, Miron T, Konstantinovski L, Wichek M, Mierelman D, Weiner L. The mode of action of allicin: trapping of radicals and interaction with thiol-containing proteins: Biochim Biophys Acta 1998; 1379: 233-244.

146. Timonin MI, Thexton RH. The rhizosphere effect of onion and garlic on soil microflora. Soil Sci Soc Amer Proc 1951; 15: 186-189.

147. Fliermans CB. Inhibition of *Histoplasma capsulatum* by garlic. Mycopathol Mycol Appl 1973; 50: 227-231.

148. Tansey MR. Inhibition of fungal growth by garlic extract. Mycologia 1975; 67: 409-413.

149. Adetumbi M, Javor GT, Lau BHS. *Allium sativum* (garlic) inhibits lipids synthesis by *Candida albicans*. Antimicrob Agents Chemother 1986; 30: 499-501.

150. Venogopal PV, Venogopal TV. Antidermatophytic activity of garlic (*Allium sativum*) *in vitro*. Int J Dermatol 1995; 34: 278-279.

151. Shams-Ghahfarohki M, Shokoohamiri MR, Amirrajab N, Moghadasi B, Ghajari A, Zeini F, et al. In vitro antifungal activities of *Allium cepa*, *Allium sativum* and ketoconazole against some pathogenic yeast and dermatophytes. Fitoterapia 2006; 77: 321-323.

152. Iwalokun BA, Ogunledun A, Ogbolu DO, Bamiro SB, Jimi-Omojola J. In vitro antimicrobial properties of aqueous garlic extract against multidrug-resistant bacteria and *Candida* species from Nigeria. J Med Food 2004; 7: 327-333.

153. Lemar KM, Aon MA, Cortassa S, O´rourke B, Müller CT, Lloyd D. Diallyl didulfide dlepetes glutathione in *Candida albicans*: oxidative stress-mediated cell death studied by two-photon microscopy. Yeast 2007; 24: 695-706.

154. Terrasson J, Xu B, Li M, Allart S, Davignon JL, Zhang LH, et al. Activities of Z-ajoene against tumour and viral spreading *in vitro*. Fundam Clin Pharmacol. 2007; 21: 281-289.

155. Bhattachariyya M, Girish GV, Karmohapatra SK, Samad SA, Sinha AK. Systemic production of IFN-α by garlic (*Allium sativum*) in humans. J Interferon Cytokine Res. 2007; 27: 377-382.

156.Takasu J, Uykimpang R, Sunga MA, Amagase H, Niihara Y. Aged garlic extract is a potential therapy for sickle-cell anemia. J Nutr 2006; 136: 803S-805S.

157. Moriguchi T, Tahasugi N, Itakura Y. The effects of aged garlic extract on lipid peroxidation and the deformability of erythrocytes. J Nutr 2001; 131: 1016S-1019S.

158. Chan KC, Yin MC, Chao WJ. Effect of diallyl trisulfide-rich garlic oil on blood coagulation and plasma activity of anticoagulation factors in rats. Food Chem Toxicol 2007; 45: 502-507.

159. Oi Y, Kawada T, Shishido C. Allyl-containing sulfides in garlic increase uncoupling protein content in brown adipose tissue and noradrenaline an adrenaline secretion in rats. J Nutr 1999; 129: 336-342.

160. Nishiyama N, Moriguchi T, Morihara N, Saito H. Ameliorative effect of S-allylcysteine , a major thioallyl constituent in aged garlic extract, on learning deficits in senescence.accelerated mice. J Nutr 2001; 131: 1093S-1095S.

161. Zhang Y, Moriguchi T, Saito H, Nishiyama N. Functional relationship between age-related immunodeficiency and learning deterioration. Eur J Neurosci. 1998; 10: 3869-3875.

162. Chauhan NB, Sandoval J. Amelioration of early cognitive deficits by aged garlic extract in Alzheimer´s transgenic mice. Phytother Res. 2007; 21:629-640.

163. Mukherjee M, Das AS, Mitra S, Mitra C. Prevention of bone loss by oil extract of garlic (*Allium sativum* Linn.) in an ovariectomized rat model of osteoporosis. Phytother Res. 2004; 18: 389-394.

164. Mukherjee M, Das AS, Das D, Mukherjee S, Mitra S, Mitra C. Effects of garlic oil on postmenopausal osteoporosis using ovariectomized rats: comparison with the effects of lovastatin and 17 -estradiol. Phytother Res. 2006a; 20: 21-27.

165.Mukherjee M, Das AS, Das D, Mukherjee S, Mitra S. Role of oil extract of garlic (*Allium sativum* Linn.) on intestinal transference of calcium and its possible correlation with preservation of skeletal health in an ovariectomized model of osteoporosis. Phytother Res. 2006b; 20: 408-415.

166. Hoshino T, Kashimoto N, Kasuga S. Effects of garlic preparations on the gastrointestinal mucosa. J Nutr 2001; 131: 1109S-1113S.

167. Lee KW, Yamato O, Tajima M, Kuraoka M, Omae S, Maede Y. Hematologic changes associated with the appearance of eccentrocytes after intragastric administration of garlic extract to dogs. Am J Vet Res 2000; 61: 1446-1450.

168. Rana SV, Pal R, Vaiphei K, Singh K. Garlic hepatotoxicity: safe dose of garlic. Trop Gastroenterol 2006; 27: 26-30.

169. Sumioyoshi HA, Kanezawa K, Masamoto A, Kanezawa K, Masamoto H, Harada S, Nagakami A, Yokota M, Nagakawa S. Chronic toxicity test of garlic extract in rats. J Toxicol 1984; 9: 61-75.

170. Gallicano K, Foster B, Choudri S. Effect of short-term administration of garlic supplements on single-dose ritonavir pharmacokinetics in healthy volunteers. Br J Clin Pharmacol 2003; 55: 199-202.

171. Mills E, Wu P, Johnston BC, Gallicano K, Clarke M, Guyatt G. Natural health product-drug interacyions. Ther Drug Monit 2005; 27: 549-557.

172. Macan H, Uykimpang R, Alconcel M, Takasu J, Razon R, Amagase H, et al. Aged garlic extract may be safe for patients on warfarin therapy. J Nutr 2006; 136: 793S-795S.

173. Tattelman E. Health effects of garlic. Am Fam Physician 2005; 72: 103-106.