



**SODİUM LAURYL SULFATE (SLS)  
VE SODİUM LAURETH SULFATE  
(SLES) 70'İN GENOTOKSİK  
ETKİSİNİN *İN VİTRO*  
YÖNTEMLER İLE  
ARAŞTIRILMASI  
Yüksek Lisans Tezi  
Burcu Ümmihan BALCI  
Eskişehir 2021**

**SODİUM LAURYL SULFATE (SLS) VE SODİUM LAURETH SULFATE  
(SLES) 70'İN GENOTOKSİK ETKİSİNİN *İN VİTRO* YÖNTEMLER İLE  
ARAŞTIRILMASI**

**Burcu Ümmihan BALCI**

**Yüksek Lisans Tezi**

**Biyoloji Anabilim Dalı**

**Moleküler Biyoloji Bilim Dalı**

**Danışman: Prof. Dr. Berrin AYZ TÜYLÜ**

**Eskişehir**

**Eskişehir Teknik Üniversitesi**

**Lisansüstü Eğitim Enstitüsü**

**Ocak 2021**

*Bu tez çalışması BAP Komisyonu tarafından kabul edilen 19ADP142 no.lu proje kapsamında desteklenmiştir.*

## ÖZET

### SODIUM LAURYL SULFATE (SLS) VE SODIUM LAURETH SULFATE (SLES) 70'İN GENOTOKSİK ETKİSİNİN *İN VİTRO* YÖNTEMLER İLE ARAŞTIRILMASI

Burcu Ümmihan BALCI

Biyoloji Anabilim Dalı

Moleküler Biyoloji Bilim Dalı

Eskişehir Teknik Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Ocak 2021

Danışman: Prof. Dr. Berrin AYZAZ TÜYLÜ

Sodium lauryl sulfate (SLS) ve Sodium laureth sulfate (SLES), günlük hayatta kullanılan birçok üründe bulunan anyonik yüzey aktif maddelerdir. Bu çalışmada SLS ve SLES 70'in genotoksik etkileri, sağlıklı insan lenfosit hücreleri üzerinde *in vitro* olarak yapılan CBMN testi, Comet testi ve HPRT testi ile araştırılmıştır.

Elde edilen bulgularda; SLS'nin %6 ve SLES 70'in %0,10 konsantrasyonlarından daha yüksek dozları sağlıklı insan lenfosit hücreleri üzerinde toksik etkiler oluşturmuş, SLS'nin %6 ve SLES 70'in %0,10 konsantrasyonları ise mikronükleus oluşumunu artırarak klastojenik bir aktivite göstermiştir. SLS'nin %6, %4 ve %2 konsantrasyonları ile SLES 70'in %0,10, %0,08 ve %0,06 konsantrasyonları Comet parametrelerinden kuyruk uzunluğu, kuyruk yoğunluğu ve kuyruk momenti değerlerini, spontan değerine göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yükselterek iplik kırılmaları şeklinde DNA hasarlarına yol açmıştır. SLS'nin %6 ve %4 konsantrasyonları ile SLES 70'in %0,10 ve %0,08 konsantrasyonları HPRT testinde orta düzeyde gen mutasyonuna neden olmuştur. Bu deney bulgularına göre, SLS ve SLES 70'in *in vitro* koşullarda sağlıklı insan lenfosit hücreleri üzerinde, doza ve süreye bağlı olarak sitotoksik ve genotoksik etkilere sahip olabileceği sonucuna varılmıştır. Bu sonuçların daha ileri çalışmalarla desteklenmesi öngörülmektedir.

**Anahtar Sözcükler:** CBMN testi, Comet testi, HPRT testi, Sodium Lauryl Sulfate (SLS), Sodium Laureth Sulfate (SLES) 70.

## ABSTRACT

### INVESTIGATION OF GENOTOXIC EFFECTS OF SODIUM LAURYL SULFATE (SLS) AND SODIUM LAURETH SULFATE (SLES) 70 WITH *IN VITRO* METHODS

Burcu Ümmihan BALCI

Department of Biology

Programme in Molecular Biology

Eskişehir Technical University, Institute of Graduate Programs, January 2021

Supervisor: Prof. Dr. Berrin AYZ TÜYLÜ

Sodium lauryl sulfate (SLS) and Sodium laureth sulfate (SLES) are anionic surfactants found in many products used in daily life. In this study, the genotoxic effects of SLS and SLES 70 were investigated by in vitro CBMN assay, Comet assay and HPRT assay on healthy human lymphocyte cells.

In the findings obtained; doses higher than 6% of SLS and 0.10% of SLES 70 had toxic effects on healthy human lymphocyte cells, while 6% of SLS and 0.10% of SLES 70 showed a clastogenic activity by increasing micronucleus formation. 6%, 4% and 2% concentrations of SLS and 0.10%, 0.08% and 0.06% concentrations of SLES 70 increased the tail length, tail intensity and tail moment values with Comet parameters statistically significantly compared to the spontaneous value and caused DNA damage in the form of strand breaks. 6% and 4% concentrations of SLS and 0.10% and 0.08% concentrations of SLES 70 caused moderate gene mutation in the HPRT assay. According to these experimental findings, it was concluded that SLS and SLES 70 may have cytotoxic and genotoxic effects on healthy human lymphocyte cells in vitro, depending on the dose and time. It is envisaged that these results will be supported by further studies.

**Keywords:** CBMN assay, Comet assay, HPRT assay, Sodium Lauryl Sulfate (SLS), Sodium Laureth Sulfate (SLES) 70.

## TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimin boyunca bilgi ve tecrübesini benimle paylaşan, sabırla desteğini hiç esirgemeyen değerli danışman hocam Sayın Prof. Dr. Berrin AYZ TÜYLÜ'ye,

Laboratuvar çalışmalarım boyunca benden yardımlarını ve bilgilerini esirgemeyen Müslime YAVUZ ve Gizem AKGÜN'e,

Ve son olarak eğitimim boyunca maddi ve manevi her türlü destek olan, evlatları olmaktan büyük gurur duyduğum anneme ve babama,

En içten teşekkürlerimi ve şükranlarımı sunuyorum.

Burcu Ümmihan BALCI

## **ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ**

Bu tezin bana ait, özgün bir çalışma olduğunu; çalışmamın hazırlık, veri toplama, analiz ve bilgilerin sunumu olmak üzere tüm aşamalarında bilimsel etik ve kurallara uygun davrandığımı; bu çalışma kapsamında elde edilen tüm veri ve bilgiler için kaynak gösterdiğimi ve bu kaynaklara kaynakçada yer verdiğimi; bu çalışmanın Eskişehir Teknik Üniversitesi tarafından kullanılan “bilimsel intihal tespit programı”yla tarandığını ve hiçbir şekilde “intihal içermediğini” beyan ederim. Herhangi bir zamanda, çalışmamla ilgili yaptığım bu beyana aykırı bir durumun saptanması durumunda, ortaya çıkacak tüm ahlaki ve hukuki sonuçları kabul ettiğimi bildiririm.

Burcu Ümmihan BALCI

## İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
BAŞLIK SAYFASI .....	i
JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI.....	ii
ÖZET .....	iii
ABSTRACT.....	iv
TEŞEKKÜR .....	v
ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ.....	vi
İÇİNDEKİLER.....	vii
TABLolar DİZİNİ .....	x
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xi
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	xiii
1. GİRİŞ .....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Yüzey Aktif Maddeler .....	3
2.2. Yüzey Aktif Maddelerin Yapısı .....	3
2.3. Yüzey Aktif Maddelerin Sınıflandırılması .....	4
2.3.1. Anyonik yüzey aktif maddeler .....	4
2.3.2. İyonik olmayan yüzey aktif maddeler .....	4
2.3.3. Katyonik yüzey aktif maddeler .....	4
2.3.4. Zwitteriyonik yüzey aktif maddeler .....	5
2.4. Çalışmada Kullanılan Yüzey Aktif Maddeler ve Bu Maddelerle Yapılan Çalışmalar .....	5
2.4.1. Sodium lauryl sulfate .....	5
2.4.2. Sodium laureth sulfate .....	7
2.4.3. SLS ve SLES ile yapılan çalışmalar .....	8
2.5. Çalışmada Kullanılan Genotoksisite Testleri .....	11
2.5.1. CBMN (sitokinez bloklama mikronükleus) testi .....	11
2.5.2. Comet (tek hücreli jel elektroforezi) testi.....	12

2.5.3. HPRT (hipoksantinguanin fosforibosiltransferaz) testi .....	13
<b>3. MATERYAL VE METOD .....</b>	<b>14</b>
3.1. CBMN Testi .....	14
3.1.1. CBMN testinde kullanılan deney ekipmanları ve kimyasallar .....	14
3.1.2. Test maddelerinin ve dozların hazırlanması.....	14
3.1.3. Lenfosit kültürü .....	15
3.1.4. Test maddelerinin uygulanması .....	15
3.1.5. Lenfosit izolasyonu .....	15
3.1.6. Preparatların hazırlanması .....	16
3.1.7. Preparatların boyanması .....	16
3.1.8. CPI değerinin hesaplanması.....	16
3.1.9. Mikronükleus sayımı.....	17
3.1.10. İstatistiksel analiz .....	17
3.2. Comet Testi .....	17
3.2.1. Comet testinde kullanılan deney ekipmanları ve kimyasallar .....	17
3.2.2. Comet testi için dozların belirlenmesi .....	18
3.2.3. Mikroskop lamalarının hazırlanması.....	18
3.2.4. Deneyde kullanılacak solüsyonların hazırlanması .....	18
3.2.5. Lenfosit izolasyonu .....	18
3.2.6. Tripan mavisi ile canlılık testi .....	19
3.2.7. Liziz.....	20
3.2.8. Elektroforez .....	20
3.2.9. Nötralizasyon .....	20
3.2.10. DNA'nın boyanması ve cometlerin görüntülenmesi .....	20
3.2.11. İstatistiksel analiz .....	21
3.3. HPRT Testi .....	21
3.3.1. HPRT testinde kullanılan deney ekipmanları ve kimyasallar .....	21
3.3.2. HPRT testi için dozların belirlenmesi .....	21
3.3.3. Lenfosit kültürü.....	21
3.3.4. Test maddelerinin uygulanması .....	22
3.3.5. Lenfosit izolasyonu .....	22
3.3.6. Preparatların hazırlanması .....	23

3.3.7. Preparatların boyanması.....	23
3.3.8. Varyans frekans değerinin hesaplanması .....	23
3.3.9. İstatistiksel analiz .....	24
<b>4. BULGULAR.....</b>	<b>25</b>
<b>4.1. SLS ve SLES 70'in Mikronükleus Oluşumu ve Hücre Proliferasyonu</b> <b>Üzerine Etkisi .....</b>	<b>25</b>
<b>4.2. SLS ve SLES 70'in DNA Hasarı Üzerine Etkisi.....</b>	<b>31</b>
<b>4.3. SLS ve SLES 70'in Gen Mutasyonu Üzerine Etkisi.....</b>	<b>35</b>
<b>5. TARTIŞMA VE SONUÇ .....</b>	<b>39</b>
<b>KAYNAKÇA.....</b>	<b>43</b>
<b>EK: ETİK KURUL RAPORU</b>	
<b>ÖZGEÇMİŞ</b>	

## TABLULAR DİZİNİ

### Sayfa

<b>Tablo 2.1.</b> SLS'nin ürünlerdeki konsantrasyonu .....	6
<b>Tablo 2.2.</b> SLES'nin ürünlerdeki konsantrasyonu .....	8
<b>Tablo 4.1.</b> İnsan lenfosit hücrelerinin SLS'nin dozları ile 24 ve 48 saat muamelesi sonucu elde edilen ortalama MN sayıları ve CPI değerleri .....	26
<b>Tablo 4.2.</b> İnsan lenfosit hücrelerinin SLES 70'in dozları ile 24 ve 48 saat muamelesi sonucu elde edilen ortalama MN sayıları ve CPI değerleri .....	29
<b>Tablo 4.3.</b> SLS ve SLES 70'in dozları ile 2 saat muamele edilmiş insan periferik lenfosit hücrelerindeki DNA hasarı .....	33
<b>Tablo 4.4.</b> İnsan lenfosit hücrelerinin SLS ve SLES 70'in dozları ile muamelesi sonucu oluşan ortalama varyans frekans değerleri .....	37

## ŞEKİLLER DİZİNİ

### Sayfa

Şekil 2.1. Yüzey aktif maddelerin yapısı .....	3
Şekil 2.2. Sodium Lauryl Sulfate'nin 2 boyutlu yapısı .....	5
Şekil 2.3. Sodium Laureth Sulfate'nin 2 boyutlu yapısı .....	7
Şekil 4.1. Bir, iki ve dört çekirdekli lenfosit hücreler (40x) .....	25
Şekil 4.2. Bir, iki ve üç çekirdekli lenfosit hücreler (40x) .....	25
Şekil 4.3. Mikronükleuslu iki çekirdekli lenfosit hücre (40x) .....	26
Şekil 4.4. SLS'nin ortalama MN sayısı üzerine etkisi. Dozların spontana göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık değerleri, * $P \leq 0.05$ , ** $P \leq 0.01$ , *** $P \leq 0.001$ ile gösterilmiştir .....	28
Şekil 4.5. SLS'nin ortalama CPI değeri üzerine etkisi. Dozların spontana göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık değerleri, * $P \leq 0.05$ , ** $P \leq 0.01$ , *** $P \leq 0.001$ ile gösterilmiştir .....	28
Şekil 4.6. SLES 70'in ortalama MN sayısı üzerine etkisi. Dozların spontana göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık değerleri, * $P \leq 0.05$ , ** $P \leq 0.01$ , *** $P \leq 0.001$ ile gösterilmiştir .....	30
Şekil 4.7. SLES 70'in ortalama CPI değeri üzerine etkisi. Dozların spontana göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık değerleri, * $P \leq 0.05$ , ** $P \leq 0.01$ , *** $P \leq 0.001$ ile gösterilmiştir .....	31
Şekil 4.8. DNA hasarı olmayan normal lenfosit hücreler (40x) .....	32
Şekil 4.9. DNA hasarı olan kuyruklu lenfosit hücreler (40x) .....	32
Şekil 4.10. SLS ve SLES 70'in dozları ile 2 saat muamele edilmiş insan periferik lenfosit hücrelerindeki DNA hasarının kuyruk uzunluğu ile karşılaştırılması. Dozların spontana göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık değerleri, * $P \leq 0.05$ , ** $P \leq 0.01$ , *** $P \leq 0.001$ ile gösterilmiştir .....	34
Şekil 4.11. SLS ve SLES 70'in dozları ile 2 saat muamele edilmiş insan periferik lenfosit hücrelerindeki DNA hasarının kuyruk yoğunluğu ile karşılaştırılması. Dozların spontana göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık değerleri, * $P \leq 0.05$ , ** $P \leq 0.01$ , *** $P \leq 0.001$ ile gösterilmiştir .....	34

<b>Şekil 4.12.</b> SLS ve SLES 70'in dozları ile 2 saat muamele edilmiş insan periferal lenfosit hücrelerindeki DNA hasarının kuyruk momenti ile karşılaştırılması. Dozların spontana göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık değerleri, * $P \leq 0.05$ , ** $P \leq 0.01$ , *** $P \leq 0.001$ ile gösterilmiştir .....	35
<b>Şekil 4.13.</b> Dört çekirdekli lenfosit hücre (40x) .....	36
<b>Şekil 4.14.</b> Üç çekirdekli lenfosit hücre (40x) .....	36
<b>Şekil 4.15.</b> Bir ve iki çekirdekli lenfosit hücreler (40x) .....	36
<b>Şekil 4.16.</b> SLS ve SLES 70'in dozları ile muamele edilmiş insan periferal lenfositlerindeki gen mutasyonunun varyans frekans değeri ile karşılaştırılması. Dozların spontana göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık değerleri, * $P \leq 0.05$ , ** $P \leq 0.01$ , *** $P \leq 0.001$ ile gösterilmiştir .....	38

## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

CBMN	: Sitokinez Bloklama Mikronukleus
CPI	: Hücre Proliferasyon İndeksi
CO <sub>2</sub>	: Karbondioksit
Cyt-B	: Cytochalasin B
DMSO	: Dimethyl Sulfoxide
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	: Hidrojen Peroksit
HNO <sub>3</sub>	: Nitrik Asit
HPRT	: Hipoksantinguanin Fosforibosiltransferaz
KCl	: Potasyum Klorür
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	: Mono Potasyum Fosfat
LD 50	: %50 Letal Doz
MMC	: Mitomycin C
MMS	: Methyl Methane Sulfonate
MN	: Mikronükleus
NaCl	: Sodyum Klorür
NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	: Monosodyum Fosfat
NaOH	: Sodyum Hidroksit
SLES	: Sodium Laureth Sulfate
SLS	: Sodium Lauryl Sulfate
6-TG	: 6-Thioguanine
dH <sub>2</sub> O	: Distile Su

## 1. GİRİŞ

Bilinen en eski insan yapımı yüzey aktif madde sabundur. Sümerlere ait tabletler incelendiğinde M.Ö. 2500 yılında sabun ürettikleri ve sabun hazırlama prosedürlerini ayrıntılı olarak anlattıkları görülmüştür. Araplar ise daha sert sabunlar hazırlayarak sabun yapma sanatını tüm Akdeniz ülkelerine yaymışlardır (Verbeek, 1987, s. 1-4).

Antik Roma'da sabun olarak kullanılan yüzey aktif maddeler, günümüzde artık sadece temizlik ürünlerinde köpük oluşturucu olarak değil, çözüldürücü ajanlar, emülgatörler, buğulanmayı önleyici ve leke giderici ajanlar gibi çeşitli işlevlerde kullanılmaktadırlar. Ayrıca kozmetiklerde, yağ ve su gibi karışmayan sıvıların eşit bir şekilde karışmasını sağlayarak cilde ve saça nüfuz etmesine yardımcı olurlar. Kozmetik ürünlerinin yıllarca stabil tutulabilmelerini sağlayabildiklerinden dolayı kozmetik sektörü için vazgeçilmezdirler (Nakama, 2017, s. 231-244).

Dünyada yılda 15 milyon ton yüzey aktif maddenin üretildiği tahmin edilmektedir ve üretilen yüzey aktif maddelerin yaklaşık yarısı sabunlar için kullanılmaktadır (Kosswig, 2000).

Çok sayıda yüzey aktif madde temizlik ve kozmetik ürünlerinin bileşenleri olarak insanlar tarafından kullanılmakta olup yanlışlıkla yutulabilirler.

Kaza sonucu oluşan zehirlenmeler özellikle çocuklar ve ergenler arasında yaygındır. Evde temizlik maddelerinden dolayı birçok zehirlenme meydana gelir. Bu zehirlenmelerin çoğu toksik olmamakla birlikte, toksik etki gösterenleri de vardır. Her yıl yaklaşık 830 bin çocuk bu tarz zehirlenmelerden ötürü ölmektedir (Litovitz ve Manoguerra, 1992, s. 999-1006; WHO, 2008).

İnsanlar günlük yaşamda birçok kimyasal maddenin mutajenik ve karsinojenik etkisine maruz kalırlar ve bunların insan genomundaki etkilerini tespit etmek gerekir. Bunun için genotoksisite testleri geliştirilmiştir. Çeşitli *in vivo* ve *in vitro* genotoksisite testleriyle DNA tek ve çift sarmal kırılmaları, nokta mutasyonları, delesyonlar, kromozomal sapmalar, mikronükleus oluşumu, DNA onarımı ve hücre döngüsü etkileşimleri gibi farklı uç noktalar tespit edilebilir (Ng vd., 2010; Yüzbaşıoğlu, Zengin ve Ünal, 2014, s. 179-186).

Bu çalışmada, anyonik yüzey aktif maddesi olan Sodium Lauryl Sulfate (SLS) ve Sodium Laureth Sulfate (SLES) 70'in sağlıklı insan lenfosit hücrelerindeki klastojenik aktivitesi CBMN (Sitokinez Bloklama Mikronükleus) testi ile, DNA tek ve çift ipliği üzerindeki genotoksik etkileri Comet (Tek Hücreli Jel Elektrofrezisi) testi ile, gen

mutasyonuna neden olma etkisi ise HPRT (Hipoksantinguanin Fosforibosiltransferaz) testi ile araştırılmıştır. Bu testler sağlıklı insan lenfosit hücreleri üzerinde *in vitro* olarak uygulanmış ve elde edilen sonuçlar insan sağlığı bakımından karşılaştırmalı olarak yorumlanıp değerlendirilmiştir.



## 2. GENEL BİLGİLER

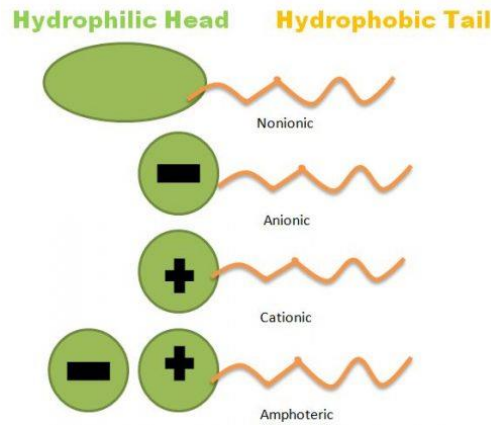
### 2.1. Yüzey Aktif Maddeler

Yüzey aktif maddeler, çözücüler içinde kendiliğinden birbirine bağlanarak bileşenlerin homojen ve stabil bir karışım haline gelmesini sağlarlar (Miyake ve Yamashita, 2017, s. 389-414).

Yüzey aktif maddeler, temizlik maddelerinde köpük oluşturucu, gıda, plastik, kağıt, deri endüstrisinde ve inşaat malzemelerinde emülgatör, bitkilerde böcek öldürücü olarak, tarımda gübre topraklanmasını önleyerek toprakta gübrenin eşit dağılımını ve tekstilde kumaşın boyayı daha iyi emmesini sağlamak için, boyalar ve cilalarda dispersiyon derecesini ve stabilitesini artırmada, fotoğraf endüstrisinde ıslatma ajanı ve metal işleme endüstrisinde korozyon önleyici olarak, elektrokimyasal işlemlerde kirlerin uzaklaştırılmasında, yapıştırıcılarda yapıştırıcıların yüzeye hızlı bir şekilde yayılmasını sağlamak için ve çimento endüstrisinde ise dispersan olarak kullanılır (Piorr, 1987, s. 5-22).

### 2.2. Yüzey Aktif Maddelerin Yapısı

Yüzey aktif maddeler genellikle amfifilik olan organik bileşiklerdir. Yani hem hidrofobik grupları (kuyrukları) hem de hidrofilik grupları (kafaları) içerirler (Kosswig, 2000). Bu nedenle, bir yüzey aktif madde hem suda çözünmeyen (yağda çözünen) bir bileşen hem de suda çözünen bir bileşen içerir. Yüzey aktif maddeler su içinde yayılır ve su ile yağın karışması durumunda yağ ile su arasındaki arayüzde adsorbe olurlar. Hidrofobik grup su fazından yağ fazına uzanabilirken, hidrofilik grup su fazında kalır (Harris, 2019). Yüzey aktif maddelerin yapısı Şekil 2.1’de gösterilmiştir.



Şekil 2.1. Yüzey aktif maddelerin yapısı (<http-1>)

### **2.3. Yüzey Aktif Maddelerin Sınıflandırılması**

Yüzey aktif maddeler, polar baş grubuna göre sınıflandırılırlar. Bunlar anyonik yüzey aktif maddeler, iyonik olmayan yüzey aktif maddeler, katyonik yüzey aktif maddeler ve zwitteriyonik yüzey aktif maddelerdir (Harris, 2019).

#### **2.3.1. Anyonik yüzey aktif maddeler**

Anyonik yüzey aktif maddeler organik maddelerdir. Bu yüzey aktif maddeler suda çözüldüğünde negatif yüklü parçacıklar yani anyonlar oluşur (Beringer ve Kurz, 2011, s. 360-386).

Anyonik yüzey aktif maddeler, sülfonat, fosfat, sülfat ve karboksilatlar gibi başlarında anyonik fonksiyonel gruplar içerir. Sodium Lauryl Sulfate ve Sodium Laureth Sulfate başlıca anyonik yüzey aktif maddelerdir (Harris, 2019).

Anyonik yüzey aktif maddeler, ticari deterjan ürünleri olarak kullanılan en yaygın yüzey aktif maddelerdir. Yüzey gerilimini düşürerek deterjanı, ıslanmayı ve emülsifikasyonu desteklerler (Pulce ve Descotes, 1996, s. 683-702).

#### **2.3.2. İyonik olmayan yüzey aktif maddeler**

İyonik olmayan yüzey aktif maddeler, elektriksel olarak yüklü olmayan polar baş gruplarına sahip yüzey aktif maddelerdir (Bastian, 2017, s. 421-444).

İyonik olmayan yüzey aktif maddeler, anyonik yüzey aktif maddelere göre su sertliğine daha az duyarlıdırlar ve daha az köpürürler. İyonik olmayan yüzey aktif maddelerin arasındaki farklar çok azdır ve seçim öncelikle bu maddelerin verimlilik, toksisite, dermatolojik uyumluluk, biyolojik olarak parçalanabilirlik, gıdada kullanım izni gibi özellikleri dikkate alınarak yapılır (Kosswig, 2000).

#### **2.3.3. Katyonik yüzey aktif maddeler**

Katyonik yüzey aktif maddeler, pozitif yüklü bir baş kısmından oluşur (Pulce ve Descotes, 1996, s. 683-702).

Setrimonyum Bromür ve Dioktadesildimetilamonyum Bromür başlıca kullanılan katyonik yüzey aktif maddelerdir (Harris, 2019).

### 2.3.4. Zwitteriyonik yüzey aktif maddeler

Zwitteriyonik yüzey aktif maddeler, aynı moleküle bağlı hem katyonik hem de anyonik merkezlere sahiptir. Çoğu, bir amin veya amonyum ile bir fosfat anyonuna sahiptir (Harris, 2019).

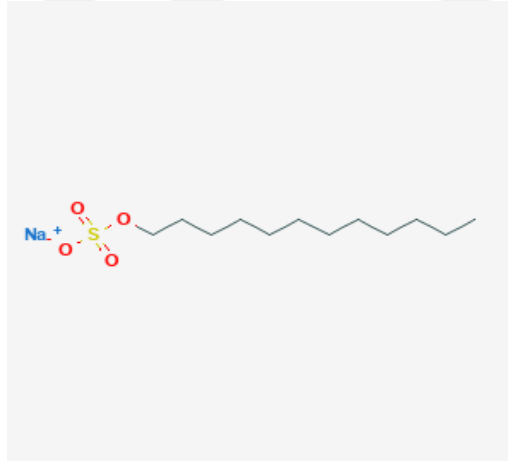
## 2.4. Çalışmada Kullanılan Yüzey Aktif Maddeler ve Bu Maddelerle Yapılan Çalışmalar

Bu çalışmada anyonik yüzey aktif madde olan SLS (Sodium Lauryl Sulfate) ve SLES (Sodium Laureth Sulfate) 70 kullanılmıştır.

### 2.4.1. Sodium lauryl sulfate

SLS, anyonik yüzey aktif madde olarak kişisel bakım ürünlerinde köpürtücü özellikte, kozmetiklerde temizleyici ajan, gıdalarda emülgatör ve böcek ilaçlarında adjuvant olarak kullanılır (HSGM).

SLS'nin molekül ağırlığı 288.38 g/mol'dür.  $C_{12}H_{25}O_4S.Na$  moleküler formüllü ve suda çözünen bir yüzey aktif maddedir. 2 boyutlu yapısı Şekil 2.2'de gösterilmiştir.



Şekil 2.2. Sodium Lauryl Sulfate'nin 2 boyutlu yapısı (http-2)

SLS, sentetik veya doğal olarak üretilebilir. Bu kimyasal, bir petrolden veya bitki kaynağından alınan lauril alkolün kükürt trioksit ile reaksiyona sokulmasıyla hidrojen lauril sülfat üretilerek sentezlenir ve daha sonra SLS üretmek için sodyum karbonat ile nötrleştirilir (Liebert, 1983, s. 127–181).

Cosmetic Ingredient Review (CIR), SLS'nin konsantrasyonunun kullanılan ürünlerde %1'den fazla olmaması gerektiğini savunmaktadır. İnceledikleri tüketici

ürünlerinde bulunan SLS konsantrasyonunun, genellikle kozmetik ürünlerde %0,08 ila %50 arasında, temizlik ürünlerinde ise %1 ila %20 arasında değiştiği gözlenmiştir (CIR, 2005). Bu değerler Tablo 2.1’de gösterilmiştir.

**Tablo 2.1.** SLS'nin ürünlerdeki konsantrasyonu

ÜRÜNLER	KONSANTRASYON
Bebek şampuanı	%3
Banyo ürünleri	%2-%20
Göz makyaj temizleyici	%0,2
Maskara	%0,06-%0,2
Poşet	%0,3
Tıraş kremi	%0,9-%5
Saç kremi	%0,1
Saç güçlendirici	-
Şampuan (renksiz)	%5-%50
Şampuan (renkli)	-
Saç boyası	%2-%20
Saç ağartıcı	%0,4-%0,2
Allık	-
Fondöten	%0,2-%1,4
Makyaj bazı	%0,8
Ağız bakım ürünleri	-
Manikür ürünleri	%0,01
Deodorant	%1
Deterjan ve sabun	%0,01-%11
Yüz ve vücut bakım ürünleri	%0,01-%5

Oküler yüzey gibi biyolojik dokular SLS'ye maruz bırakıldığında liziz, proteinlerin ekstraksiyonu ve nihayetinde hücre zarı bozulması gibi bir dizi olay meydana gelir. SLS, proteinlerde kovalent olmayan bağları bozarak hareket eder ve onları denatüre ederek moleküllerin doğal yapısını kaybetmesine neden olur (Pauloin vd., 2009, s. 1032-1041).

SLS, farklı mikroorganizma türleri arasında farklı etkilere sahip olabilir. SLS'ye karşı ayak ve ağız hastalığı virüsü oldukça dirençliyen, bulaşıcı gastroenterit virüsü SLS'ye duyarlıdır. *Candida* ve *Tricophyton* türleri için fungostatiktir ve %2'nin üzerindeki konsantrasyonları *Escherichia coli*'de ilaç direncini ve cinsiyet transfer



**Tablo 2.2.** SLES'nin ürünlerdeki konsantrasyonu

ÜRÜNLER	KONSANTRASYON
Bebek ürünleri	%5-%25
Banyo ürünleri	%6-%24
Maskara	%0,1-%0,3
Göz makyaj temizleyici	%0,1
Şampuan	%11-%50
Saç boyası	%3-%10
Saç kremi	%0,7
Deterjan ve sabun	%2-%47
Cilt temizlik ürünleri	%0,6-%25
Tıraş kremi	%1-%5
Deodorant	%7
Diş macunu	-

SLES, ticari olarak SLES 70 (SLES %70) olarak satılmaktadır.

#### 2.4.3. SLS ve SLES ile yapılan çalışmalar

Fitzhugh ve Nelson (1948, s. 29-32), SLS'nin subkronik toksik etkisini incelemek için albino fareleri 4 ay boyunca %2, %4 ve %8 SLS konsantrasyonları ile beslemiştir. Bunun sonucunda %2 SLS konsantrasyonu hafif, önemli olmayan bir büyüme geriliğine neden olmuştur. %4 SLS konsantrasyonu önemli büyüme geriliğine neden olurken, %8 SLS konsantrasyonu ise bağırsaklarda şişkinlik ve ishale yol açarak farelerin 2 hafta içinde ölmesine neden olmuştur. Ayrıca SLS'nin kronik toksik etkisini incelemek amacıyla, 2 yıl boyunca %0,25, %0,50 ve %1 SLS konsantrasyonları ile beslenen Osborne Mendel cinsi albino farelerin otopsi sonucunda, dokularda brüt ve mikroskopik anormallikler çıkmamıştır. Böylece beslenme ile SLS'nin %1'e kadar olan dozlarının toksik olmadığı sonucuna varılmıştır.

Tusing vd. (1962, s. 402-409) tarafından yapılan çalışmada, SLES'nin cilt üzerindeki tümör oluşturma etkisine bakılmak için, 0,1 ml %5 SLES konsantrasyonu 30 dişi Swiss cinsi farenin sırt bölgesine iki haftada bir olmak üzere 150 hafta boyunca uygulanmış ve yapılan incelemeler sonucunda deri tümörü gözlenmemiştir.

Walker vd. (1967, s. 763-769) tarafından yapılan çalışmada, SLS ve SLES'nin akut oral toksisitesinin bulunması amacıyla, %25 SLS konsantrasyonu ve %24 SLES konsantrasyonu tek dozda beş erkek ve beş dişi Carworth Farm E cinsi fareye uygulanmış

ve hayvanlar 10 gün boyunca gözlemlenmiştir. %95 güven limitli SLS'nin akut oral LD 50 değeri 1288 mg/kg, SLES'nin akut oral LD 50 değeri ise 1995 mg/kg olarak bulunmuştur.

Tovell vd. (1974, s. 501-506), SLS'nin cilt üzerindeki tahrişini incelemek için dişi Colworth Wistar cinsi farelerin sırt bölgelerini tıraş edip bu bölgeye 3 gün boyunca ve günde 2 kez olmak üzere %1 SLS konsantrasyonunu uygulamıştır. Bu 3 günün sonunda işlem görmüş alanda ödem ve kızarma belirtileriyle birlikte stratum korneumun kalınlaştığı gözlenmiştir.

Prottey ve Ferguson (1975, s. 29-46), SLS'nin, keratinin denatürasyonu sonucu ortaya çıkan sülfidril grupları üzerindeki etkisine bakmak için toz haline getirilmiş insan kallusunu, su (kontrol), 1 mM SLS ve 10 mM SLS'ye maruz bırakmıştır. Kontrol ile karşılaştırıldığında, 1 mM SLS konsantrasyonu kallustan serbest bırakılan sülfidril gruplarının yüzdesinde hiçbir artış sağlamazken, 10 mM SLS konsantrasyonu kallustan serbest bırakılan sülfidril gruplarında %78,9 artış sağlamıştır.

Prottey ve Ferguson (1976, s. 425-430), SLES'nin cilt üzerindeki tahrişini incelemek için 0,25 mM SLES (%5 ila %10 arasında bir değerdir) konsantrasyonunu sırtları tıraşlanmış farelere uygulayıp 1 ve 3 gün bekletmiştir. Bu dozun 1 gün sonra hiçbir tahrişe neden olmadığı, 3 gün sonra ise hafif kızarıklık ve ödeme neden olduğu gözlenmiştir.

Rubisz-Brzezińska vd. (1976, s. 25-31), SLES'nin cilt üzerindeki etkisine bakmak için 7-8 haftalık ve 60-70 gr ağırlığındaki erkek Wistar cinsi farelerin sırt bölgesinde bir alanı tıraş edip, %60, %30, %9 ve %0,9 SLES konsantrasyonlarını her doz için 13'er farede olmak üzere 65 gün boyunca bu tıraş edilen bölgeye uygulamıştır. %60 SLES konsantrasyonu 12 gün sonra stratum korneum tabakasının kalınlaşmasına, epiderminin incelmesine, enflamatuar reaksiyonlara neden olurken, 15 gün sonra 7 hayvanın ölmesine neden olmuştur. %30 SLES konsantrasyonu 2 hafta sonra hafif kızarıklığa neden olurken, 30 gün sonra enflamatuar reaksiyonlara neden olmuştur. %9 SLES konsantrasyonu hafif bir enflamatuar reaksiyona neden olurken, %0,9 SLES konsantrasyonu hiçbir değişiklik göstermemiştir.

Hope (1977, s. 47-50), SLS'nin kemik iliği hücrelerinin kromozomları üzerindeki klastojenik etkisini incelemek için 90 gün boyunca altı erkek ve altı dişi Colworth Wistar sıçanlarını, %1,13 ve %0,56 SLS konsantrasyonları ile beslemiştir. 90 gün sonra hayvanlar öldürülüp her hayvanın uyluk kemiğindeki kemik iliği inceleme için

çıkarılmıştır. Bu dozların kromozomal bozulmalarda artış sağlamadığı ve klastojenik bir etkiye neden olmadığı gözlenmiştir.

Ciuchta ve Dodd (1978, s. 305-324), SLS'nin oküler tahriş potansiyeline bakmak için %2, %10 ve %20 SLS konsantrasyonlarını 0,1 ml'lik hacimlerde beş tavşanın sol gözüne damlatmış ve sağ gözü kontrol olarak almıştır. 1 saat, 24 saat ve 7 günlük süre sonunda, %2 SLS konsantrasyonu 1 saatte hafif derecede tahrişe neden olurken, 7 günlük sürede tahrişe neden olmamıştır. %10 SLS konsantrasyonu 1 ve 24 saatte orta derecede tahrişe neden olurken, 7 günlük sürede hafif bir tahrişe neden olmuştur. %20 SLS konsantrasyonu 24 saatte yüksek derecede tahrişe neden olurken, 7 günlük sürede hafif bir tahrişe neden olmuştur.

Charbonnier vd. (2001, s. 279-286) tarafından yapılan çalışmada, aynı konsantrasyondaki SLS ve SLES'nin cilt üzerindeki etkilerini karşılaştırmak için hiçbir cilt hastalığı olmayan 10 ila 41 yaşları arasındaki 5 erkek ve 15 kadının el ve kolları, 4 ml %5 konsantrasyondaki SLS ve SLES ile 1 dakika boyunca yıkanıp 15 saniye boyunca ılık suyla durulandıktan sonra 2 dakika dinlendirilmiştir. Bu işlem 2 kez tekrarlanmıştır. %5 konsantrasyondaki SLS ve SLES, 1 hafta kullanılıp 1 hafta dinlenilmek üzere 3 hafta boyunca deneklere evde kullanmaları için verilmiş ve bu süre boyunca krem ve losyon kullanmaları yasaklanmıştır. Yapılan incelemeler sonucunda her iki ürün de kızarıklığa neden olmamıştır. SLES, SLS'den daha fazla cilt kuruluğuna neden olurken SLS, SLES'ye göre daha fazla cilt hasarına neden olmuştur.

Törmä vd. (2006, s. 472-479), SLS'nin insan keratinosit hücreleri üzerindeki toksik etkisine bakmak için XTT testi kullanmıştır. %0,002 ve üzerindeki SLS konsantrasyonlarının 24 saat maruziyette toksik etkileri gözlenmiştir.

Freitas vd. (2020), SLS'nin toksik etkisine bakmak için *Mytilus galloprovincialis* cinsi midyeleri akvaryumda 0,5 mg/L, 1 mg/L, 2 mg/L ve 4 mg/L SLS ile 28 gün boyunca muamele ettirmiştir. SLS'ye maruz kalan midyeler sınırlı antioksidan savunma mekanizmaları ortaya çıkarmıştır. Sadece 4 mg/L doz muamelesi hücrel hasara neden olmuştur. Ayrıca dozun miktarı yükseldiği zaman midyelerin solunum hızının düştüğü gözlenmiştir.

## 2.5. Çalışmada Kullanılan Genotoksisite Testleri

### 2.5.1. CBMN (sitokinez bloklama mikronükleus) testi

CBMN testi, insan lenfosit hücrelerinde *in vitro* ve *in vivo* olarak kromozomal hasarı ölçmek için en yaygın kullanılan yöntemlerden biridir (Bolognesi ve Fenech, 2013, s. 191-207; Kirsch-Volders vd., 2014, s. 49-58).

CBMN testi, mitotik iğ ile etkileşime giremeyen ve bu nedenle hücre bölündüğünde geride kalan kromozom ve kromozom parçalarını tanımlamak için kullanılan bir testtir (Fenech, 2007, s. 1084-1104). CBMN testi, kültürlenmiş insan ve memeli hücrelerindeki bir kez bölünmüş hücrelerin sitokinezi, Sitokalsin B (Cyt-B) ile bloke edildikten sonra oluşan iki çekirdekli hücrelerde mikronükleus (MN) frekansını belirlemek için tercih edilir (Carter, 1967, s. 261-264; Fenech ve Morley, 1986, s. 193-198; Fenech, 2000, s. 81-95).

Mikronükleus, hücre bölünmesi sırasında anafazda geride kalan kromozomlardan ve kromozom kırıklarından oluşan, çekirdek dışındaki küçük yapılardır (Heddle, 1973, s. 187-190; Schmid, 1975, s. 9-15; Fenech, 2000, s. 81-95). Mikronükleuslar, çekirdekler ile morfolojik olarak aynıdır ancak onlardan daha küçüktürler. Mikronükleusun çapı ana çekirdeğin çapının 1/16'sı ile 1/3'ü arasında değişir ve çekirdek ile aynı renkte boyanır. En az 1000 adet iki çekirdekli hücrede MN sayılır (Thomas ve Fenech, 2010, s. 217-234). Artan MN sayısı klastojenik veya anöjenik etkiye sahip genotoksik ajanlara maruz kaldığını gösterir (Albertini vd., 2000, s. 111-172).

CBMN testinde asimetrik kromozomların yeniden düzenlemelerinden kaynaklanan nükleoplazmik köprüleri ve gen amplifikasyonları nedeniyle oluşan nükleer tomurcukları ölçmek mümkündür (Umegaki ve Fenech, 2000, s. 261-269; Fenech, 2002, s. 411-416).

Nükleoplazmik köprüler, disentrik kromozomlar nedeniyle oluşur ve iki çekirdekli hücrede çekirdekleri birbirine bağlayan bir köprü şeklindedir. Genişliği çekirdek çapının 1/4'ünü geçmez ve çekirdek ile aynı renk boyanır. Nükleer tomurcuklar ise gen amplifikasyonları sonucu oluşur ve çekirdeğe ince bir köprü ile bağlı tomurcuk şeklindeki yapılardır. Çekirdek ile aynı renkte boyanırlar (Thomas ve Fenech, 2010, s. 217-234).

Nükleer bölünme indeksi, hücre proliferasyonunu ölçmeyi sağlar ve böylece sitotoksik etki hakkında bilgi verir. Bunun için en az 1000 adet hücre sayılmalıdır (Fenech, 2006, s. 58-66).

Son yıllarda CBMN testi, kromozom kırılması, DNA yanlış onarımı, kromozom kaybı, anafazda ayrılmama, nekroz, apoptoz ve sitostaz ölçümü için kapsamlı bir yöntem

dönüşmüştür (Fenech ve Morley, 1985, s. 29-36; Fenech ve Morley, 1985, s. 233-246; Fenech, 2002, s. 1128-1137).

### **2.5.2. Comet (tek hücreli jel elektroforezi) testi**

1984 yılında Ostling ve Johanson DNA kırıklarını nötr ortamda ölçmek için mikrojel elektroforez kavramını tanıtmıştır (Ostling ve Johanson, 1984, s. 291-298). 1988 yılında Singh ve arkadaşları bu yöntemi geliştirerek alkali bir ortamın testin özgünlüğünü ve tekrarlanabilirliğini önemli ölçüde artırdığını göstermiştir (Singh vd., 1988, s. 184-191). Nötr Comet testi çoğunlukla çift sarmallı DNA kırılmalarını saptamak için kullanılırken, alkali Comet testi tek ve çift sarmallı DNA kırılmalarını, DNA-DNA veya DNA-protein çapraz bağlanmasını ve eksizyon onarım bölgelerindeki eksiklik sonucu DNA tek iplikli kırılmaları saptamak için kullanılır (Tice vd., 2000, s. 206-221; Shah, Lakkad ve Rao, 2016, s. 502-508).

Comet testi, *in vitro* ve *in vivo* genotoksik çalışmalar için hassas bir yöntem olarak kabul edilir. Çevresel izleme, DNA hasarı ve onarımında temel araştırmalar gibi farklı alanlarda uygulanabilir (Azqueta ve Collins, 2013, s. 949-968).

Comet testinin prensibi, bir elektrik alanı altında Comet kafası olarak adlandırılan çekirdek dışına çıkan parçalanmış DNA'nın, agaroz jelde Comet kuyruğu olarak adlandırılan bir DNA lekesi oluşturmasıdır. Nükleotid boyama ile DNA hasarının boyutu bu oluşan Comet kuyrukları analiz edilerek ölçülür. Böylece farklı deney grupları arasında DNA hasarını karşılaştırmaya yardımcı olur. Geleneksel DNA hasarı saptama yöntemleriyle karşılaştırıldığında Comet testi, duyarlı, ucuz ve basittir (Lu, Liu ve Yang, 2017).

Comet testinin bulunmasından beri testi geliştirmek için çabalar harcandı. Birkaç grup agaroz konsantrasyonunu, liziz tamponlarını ve DNA'yı boyamayı en iyi hale getirmeyi üstlendi (Bauch vd., 1999, s. 333-340; Banáth, Kim ve Olive, 2001, s. 564-571).

Pek çok araştırmacı, bilinen bir genotoksik maddeye maruz kaldıktan sonra hasardaki azalmayı ölçerek hücrelerin DNA onarım kapasitesini incelemekle ilgilenmektedir. Ancak onarım süreçleri, DNA hasarının ölçülmesini karmaşık hale getirir (Speit ve Hartmann, 1995, s. 555-559).

### 2.5.3. HPRT (hipoksantinguanin fosforibosiltransferaz) testi

Memelilerde HPRT gen mutasyon testinin yaygın olarak kullanılan bir test olmasının nedeni vardır. HPRT geni, memeli X kromozomunda kodlandığı için hücrelerdeki işlev kaybı mutantların seçilmesi kolaydır (Zaïr ve Johnson, 2014, s. 185-197). Kimyasal sonucu işlem kaybı olan hücrelerin 6-Tiyoguanin (6-TG) varlığında hayatta kalanlarını seçmek basit ve etkili bir yoldur (Caskey ve Kruh, 1979, s. 1-9). Ayrıca deney hayvanları ve insanlar arasında HPRT genindeki mutasyonların hücre hatları karşılaştırılabilir (Chen, Harrington-Brock ve Moore, 2002, s. 296-305).

HPRT testinde ilk olarak insan enfoblastoid hücre hatları kullanıldı (Furth vd., 1981, s. 1-8). Daha sonra bu testte yaygın olarak Çin hamster yumurtalık hücreleri kullanıldı (Moore vd., 1991, s. 77-85). Ayrıca T-lenfositler, birçok dokuda dolaştığı için uygulanan bir mutajen ile daha fazla temas etme şansları vardır ve hücre bölünmesine devam ettikleri için mutant hücrelerin tanımlanması kolaydır. Bu yüzden T-lenfositleri HPRT testinde kullanmak daha faydalıdır (Zaïr ve Johnson, 2014, s. 185-197).

X kromozomunun uzun kolunda (Xq26-27), HPRT1 geni tarafından kodlanan HPRT enzimi, pürin kurtarma yolunda önemli bir rol oynar. HPRT, pürin geri dönüşüm yolunda pürinlerin monofosfatlara dönüşümünü katalize eder ve pürin bazları ile onların nükleozidlerini yıkımdan kurtarır. HPRT testi ise bir kimyasalın memeli hücrelerindeki HPRT lokusunda mutasyonlara neden olma yeteneğini ölçer. HPRT enzimini kaybetmiş mutant hücreler pürin kurtarma yolları çalışmadığı için bir pürin analogu olan 6-TG varlığında hayatta kalırken, mutasyona uğramamış hücreler 6-TG varlığında ölür. Çünkü 6-TG, HPRT enzimi için bir substrattır ve normal hücreler için toksiktir (Albertini, 2001, s. 1-16; Stearns, 2007, s. 209-224; Johnson, 2012, s. 55-67; Zaïr ve Johnson, 2014, s. 185-197).

HPRT mutasyonu ile ilişkili 300'den fazla hastalık ve HPRT1 geninde 600'den fazla heterojen mutasyon bildirilmiştir. Bu hastalıklardan birisi Lesch-Nyhan hastalığıdır. Lesch-Nyhan hastalığı, HPRT enziminin eksikliği sonucu oluşur ve X kromozomuna bağlı kalıtsal nörogenetik bir bozukluktur. Bu hastalıkta hiperürisemi, motor engellik, zihinsel engellik ve kendine zarar verme gibi durumlar görülür (Lesch ve Nyhan, 1964, s. 561-570; Seegmiller, Rosenbloom ve Kelley, 1967, s. 1682-1684; Torres ve Puig, 2007; Fu vd., 2014, s. 1282-1303).

### **3. MATERYAL VE METOD**

#### **3.1. CBMN Testi**

Bu çalışmada anyonik yüzey aktif maddesi olan SLS ve SLES 70'in kromozom kırıklarına yol açan klastojenik aktivitesi mikronükleus sayısı ile, sitotoksik etki düzeyi CPI (hücre proliferasyon indeksi) değeri ile belirlenmiştir.

Mikronükleus sayısını saptamak için, Fenech (2000, s. 81-95) ile Kirsch-Volders vd. (2003, s. 153–163) tarafından geliştirilen, bir hücre siklusunu tamamlayan hücrelerin Sitokalsin-B ile sitokinezi durdurulup ortaya çıkan iki çekirdekli hücrelerde mikronükleus gözükmesini sağlayan metod değiştirilerek kullanılmıştır.

##### **3.1.1. CBMN testinde kullanılan deney ekipmanları ve kimyasallar**

Steril kabin, enjektör, su banyosu, falcon tüp, tüplük, inkübatör, mikropipet, mikropipet uçları, endorf, cam şişe, tartı, hassas terazi, manyetik balık, buzdolabı, santrifüj, pasteur pipet, beher, lam, lamel, dikey şale, mikroskop.

SLS (Zag Kimya), SLES 70 (Biotechsa), Kromozom medyum (Gibco), Heparin (Nevparin), Mitomycin C (Sigma), Cytochalsin B (Sigma), Giemsa (Sigma), HNO<sub>3</sub> (Sigma), NaCl (Sigma), KCl (Merck), Acetic acid (Riedel-de Haën), Methanol (Riedel-de Haën), KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (Merck), NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (Merck).

##### **3.1.2. Test maddelerinin ve dozların hazırlanması**

SLS ve SLES ile ilgili literatür taramalarına göre söz konusu test maddelerinin, insan hücreleri üzerindeki sitotoksik ve genotoksik etkisini gösteren yeterli çalışma bulunamamıştır. Yapılan literatür taraması sonucunda test maddelerinin lenfositler üzerine uygulanacak dozlarının belirlenmesinde, hücreler için sitotoksik olabileceği düşünülen yüksek dozlar denenmiştir. SLS'nin %6 konsantrasyonunun ve SLES 70'in %0,10 konsantrasyonunun üstü toksik etki göstermiştir. Genotoksik çalışmalarda seçilen dozun toksik olmaması gerektiği için, bu çalışmada SLS için %6, %4, %2 ve %1 konsantrasyonları olmak üzere 4 doz seçilirken, SLES 70 için %0,10, %0,08, %0,06 ve %0,04 konsantrasyonları olmak üzere 4 doz seçilmiştir. SLS ve SLES 70 suda çözünmediği için dozlar distile su ile seyreltilmiştir.

### 3.1.3. Lenfosit kültürü

Sağlıklı, sigara içmeyen, düzenli olarak ilaç ve alkol kullanmayan, 25-30 yaş arası 1 erkek ve 1 bayandan steril koşullarda kan alınmıştır. Alınan kan, 0,2 ml (6 damla) olacak şekilde steril kabinde 2,5 ml kromozom medyumunu (37°C) bulunan tüplere ilave edilmiş ve %5'lik CO2 inkübatöründe 37°C'de toplam 72 saat inkübasyona bırakılmıştır. Steril kabinde yapılması ile ortamdaki kaynaklanacak kontaminasyon riski en aza indirgenmiştir. Ayrıca kullanılan kromozom medyumuna Heparin içermediği için, bir kromozom medyumunda bulunması gereken miktar literatür taraması yapılarak bulunmuş ve kullanılan her 100 ml'lik kromozom medyumuna 500 µl Heparin eklenmiştir.

### 3.1.4. Test maddelerinin uygulanması

SLS ve SLES 70'in belirlenen dozları, pozitif kontrol olan 0,3 µg/ml Mitomycin C ve SLS ile SLES 70'i seyrelmek için kullanılan çözücü (distile su), 24. ve 48. saatlerde kültüre 50 µl olarak eklenmiştir. Ayrıca sitokinezi bloke etmek için 44. saatte 6 µg/ml Cytochalasin B, 50 µl olarak her tüpe ilave edilmiştir. 72 saat sonuna kadar inkübasyona devam edilmiştir. Bu işlemler yine steril kabinde yapılarak ortamdaki kaynaklanacak kontaminasyon riski en aza indirgenmiştir.

### 3.1.5. Lenfosit izolasyonu

72 saat inkübasyon süresi bitmeden 2 saat önce %0,4 KCl hazırlanıp 37°C'deki inkübatöre kaldırılmış, 5:1 oranında Methanol ile Acetic acid içeren fiksatif 2 ve 1:1 oranında fiksatif 2 ile %0,9 NaCl içeren fiksatif 1 hazırlanıp 4°C'deki buzdolabına kaldırılmıştır. 72 saat süren inkübasyonun bitiminde tüpler 1200 rpm'de 30 dakika santrifüj edilmiş, santrifüjden çıktıktan sonra süpernatant kısımları tüp içeriği 1 ml kalana kadar atılmıştır. Tüplerin dibinde kalan hücrelerin homojen hale gelmesi için pasteur pipeti ile hafifçe pipetaj yapılmıştır. Daha sonra her tüpe 37°C'de bekleyen %0,4 KCl, 7 ml ilave edilmiş ve oda sıcaklığında 10 dakika bekletilmiştir. Süre bitiminde kültür tüpleri, 1200 rpm'de 15 dakika santrifüj edilmiş, süpernatant kısımları tüp içeriği 1 ml kalana kadar atılmıştır. Tüpün dibinde kalan kısım pasteur pipeti ile homojen hale getirildikten sonra, 4°C'de bekleyen fiksatif 1 her tüpe 6 ml ilave edilmiş ve oda sıcaklığında 15 dakika bekletilmiştir. Süre bitiminin ardından tüpler tekrar 1200 rpm'de 15 dakika santrifüj edilmiş, süpernatant kısımları tüp içeriği 1 ml kalana kadar atılmıştır.

Tüpün dibinde kalan kısım pasteur pipeti ile homojen hale getirildikten sonra, 4°C'de bekleyen fiksatif 2 her tüpe 6 ml ilave edilmiş ve oda sıcaklığında 15 dakika bekletilmiştir. Süre bitiminin ardından tüpler tekrar 1200 rpm'de 15 dakika santrifüj edilmiş, süpernatant kısımları tüp içeriği 1 ml kalana kadar atılmıştır. Tüpün dibinde kalan kısım pasteur pipeti ile homojen hale getirildikten sonra, 4°C'de bekleyen fiksatif 2 yine her tüpe 6 ml ilave edilmiş ve oda sıcaklığında 15 dakika bekletilmiştir. Süre bitiminin ardından tüpler tekrar 1200 rpm'de 15 dakika santrifüj edilmiş, süpernatant kısımları tüp içeriği 0,7 ml kalana kadar atılmış, böylece kalan hücreler preparat haline getirilme işlemine hazırlanmıştır.

### **3.1.6. Preparatların hazırlanması**

Deneyin 2. gününde her tüp için 3 lam olacak şekilde, lamalar dikey şalelere dizilmiş ve 1N HNO<sub>3</sub> ile 24 saat muamele edilmiştir. Süre bitiminin sonunda şalelerin 15 dakika akan musluk suyu altında bekletilip yıkanması sağlanmıştır. Yıkama işlemi bittikten sonra 3 kez distile sudan geçirilip, yine distile su içinde buzdolabına kaldırılmıştır. Buzdolabında bekletilen lamaların üzerine 0,7 ml olarak tüpte kalan hücreler 10 cm yükseklikten ve her biri farklı bir alana denk gelecek şekilde 6 damla olmak üzere 3 lama damlatılmıştır. Her bir doz için hazırlanan 3 adet preparat oda ısısında kurumaya bırakılmıştır.

### **3.1.7. Preparatların boyanması**

Kuruyan lamalar yine dikey şalelere dizilmiş ve %5'lik Giemsa boyasında 9 dakika bekletilerek boyanmıştır. Daha sonra distile su ile yıkanarak kurumaya bırakılmıştır. Kuruyan preparatlar entellan ile kapatılarak daimî hale getirilmiştir. Daha sonra mikroskopta inceleme yapılmıştır.

**%5'lik Giemsa'nın Hazırlanması:** 5 ml tampon A (4,536 g KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 100 ml ultra saf su içerisinde karıştırılarak hazırlanır), 5 ml tampon B (5,932 g NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 100 ml ultra saf su içerisinde karıştırılarak hazırlanır), 5 ml Giemsa ve 85 ml ultra saf su.

Bu boya filtre kâğıdı ile behere süzildikten sonra boyama işlemi yapılmıştır.

### **3.1.8. CPI değerinin hesaplanması**

Her bir doz için bir, iki, üç ve dört çekirdeğe sahip toplam 1000 adet hücre sayılmış ve aşağıda gösterilen şekilde CPI değerleri hesaplanmıştır.

$$CPI = NII + 2 \times (NIII + NIV) / T$$

(NII: İki çekirdekli hücreler, NIII: Üç çekirdekli hücreler, NIV: Dört çekirdekli hücreler ve T: Toplam hücre sayısı (1, 2, 3 ve 4 çekirdekli hücreler) = 1000)

Hesaplanan CPI değerini kontrole göre yarıya düşüren dozlar için LD 50, daha fazla düşüren dozlar için ise toksik nitelemesi yapılır.

### **3.1.9. Mikronükleus sayımı**

SLS ve SLES 70'in klastojenik etkisini belirleyebilmek için, CBMN testine göre hazırlanmış olan preparatlarda, her bir doz için 1000 adet iki çekirdekli hücre incelenerek içerdikleri mikronükleuslar sayılmıştır.

### **3.1.10. İstatistiksel analiz**

CBMN ile yapılan deneysel çalışmalara ait veriler, SPSS 22 programında Dunnett T3 Testi ile analiz edilerek ortalama değerler (ort.  $\pm$  SS) ile anlamlılık değerleri (\*  $P \leq 0.05$ , \*\*  $P \leq 0.01$ , \*\*\*  $P \leq 0.001$ ) hesaplanmıştır.

## **3.2. Comet Testi**

Bu çalışmada anyonik yüzey aktif maddesi olan SLS ve SLES 70'in genotoksik etkileri, DNA'nın tek ve çift ipliğindeki kırılmalar ile belirlenmiştir.

### **3.2.1. Comet testinde kullanılan deney ekipmanları ve kimyasallar**

Falcon tüp, tüplük, enjektör, santrifüj, cam şişe, tartı, hassas terazi, manyetik balık, pasteur pipet, pH metre, thoma lamı, floresan mikroskop, endorf tüpü, mikropipet, mikropipet uçları, yatay şale, inkübatör, su banyosu, mikrodalga fırın, buzdolabı, lam, lamel, beher, buz kalıpları, alüminyum folyo, elektroforez tankı.

SLS (Zag Kimya), SLES 70 (Biotechsa), Histopaque 1077 (Sigma), RPMI 1640 (Multicell), Agarose Type VI-A High Gelling (Sigma), NaCl (Sigma), Na<sub>2</sub>EDTA (Sigma), Trizma Base (Sigma), NaOH (Sigma), Triton-X 100 (BioChemica), DMSO (Merck), Trizma Hydrochloride (Sigma), HCl (Sigma), Fosfat tampon (PBS) tabletleri (Sigma), Trypan Blue (Sigma), H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (Sigma), Agarose Low Gelling (Sigma), Ethidium Bromide (Sigma).

### 3.2.2. Comet testi için dozların belirlenmesi

Comet testinde uygulanacak dozlar belirlenirken, CBMN testinde kullanılan dozlar referans alınmıştır. Comet testinde, bir ajanla muamele gören hücrelerde, canlılık oranının en az %80 değerinde olması istenmektedir. Seçilen dozlar istenilen değerlerde canlılık sağlamıştır.

### 3.2.3. Mikroskop lamalarının hazırlanması

Deneyden 1 gün önce 0,75 gr Agarose Type VI-A High Gelling, 100 ml dH<sub>2</sub>O'da çözülmüş ve lamalar rodajlı kısmına kadar agarosa batırılıp altları silindikten sonra kurumaya bırakılmıştır. Lamalar kurduktan sonra numaralandırma yapılarak hazır hale getirilmiştir.

### 3.2.4. Deneyde kullanılacak solüsyonların hazırlanması

Deneyden 1 gün önce çalışmada kullanılacak solüsyonlar aşağıda belirtildiği şekilde hazırlanmıştır.

Fosfat Tamponu (PBS): 1 adet PBS tableti 200 ml distile suda çözülür ve oda sıcaklığında saklanır.

Liziz Solüsyonu: 29,22 gr NaCl, 7,4448 gr Na<sub>2</sub>EDTA ve 0,2422 gr Trizma Base 200 ml distile suda çözülür ve NaOH ile pH 10 olacak şekilde ayarlanır.

Hazırlanan liziz solüsyonu koyu renkli şişede ve 4°C'de saklanır.

Liziz solüsyonunu kullanmadan 30 dakika önce her 100 ml çözelti için 1 ml Triton-X 100 ve 10 ml DMSO eklenir.

Nötralizasyon Buffer: 1 gr Trizma Base ve 8,6912 gr Trizma Hydrochloride 200 ml distile suda çözülür ve HCL ile pH 7,5 olacak şekilde ayarlanır.

Hazırlanan nötralizasyon buffer koyu renkli şişede ve 4°C'de saklanır.

Running Buffer: 0,3735 gr Na<sub>2</sub>EDTA ve 12 gr NaOH 1 L distile suda çözülür ve pH 13 olacak şekilde ayarlanır.

Hazırlanan running buffer koyu renkli şişede ve 4°C'de saklanır.

Ayrıca 1 L distile su 4°C'de saklanır.

### 3.2.5. Lenfosit izolasyonu

Sağlıklı, sigara içmeyen, düzenli olarak ilaç ve alkol kullanmayan, 25-30 yaş arası 1 erkek ve 1 bayandan steril koşullarda alınan 6 ml kan, 6 ml Histopaque 1077 (oda ısısında) içeren tüpün içine yavaşça damla damla ilave edilmiştir. Tüpler 400 g'de 30

1 dakika santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonrası tüpte oluşan 3 fazdan ortadaki faz olan lenfositler 3 ml olacak şekilde 2 yeni tüpe alınmıştır. Her tüpteki lenfositlerin üzerine 6 ml PBS solüsyonu hızlıca eklenmiş ve köpürterek pipetaj yapılmıştır. Daha sonra 250 g'de 10 dakika santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonrası süpernatant, tüp içeriği 1 ml kalana kadar atılmıştır. Her tüpe tekrar 3 ml PBS solüsyonu hızlıca eklenmiş ve köpürterek pipetaj yapılmıştır. Yine 250 g'de 10 dakika santrifüj yapılmıştır. Santrifüj sonrası süpernatant, tüp içeriği 1 ml kalana kadar atılmıştır. Her tüpe yine 3 ml PBS solüsyonu hızlıca eklenmiş ve köpürterek pipetaj yapılmıştır. Son olarak 250 g'de 10 dakika santrifüj yapılmıştır. Santrifüj işlemi sonrasında süpernatant atılıp 2 tüpteki pelletin üzerine 1 ml 37°C RPMI 1640 ilave edilmiştir ve bu 2 tüp, 1 tane yeni tüpte birleştirilmiştir.

SLS ve SLES 70'in dozları, pozitif kontrol olan 50 µM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ve SLS ile SLES 70'i seyreltmek için çözücü olarak kullanılan distile su, madde maruziyeti için ependorf tüplere, tüp içeriği 150 µl RPMI 1640 (37°C) içinde dilüe edilen lenfosit, 95 µl RPMI 1640 (37°C) ve 5 µl madde olacak şekilde eklendikten sonra 37°C'de 2 ve 24 saatlik inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonrası lenfositlerde canlılık tespiti için tripan mavisini ile canlılık testi yapılmıştır.

### **3.2.6. Tripan mavisini ile canlılık testi**

Hücre membranını zarar görmüş canlı olmayan hücreler negatif yüklü bir boya olan tripan mavisini absorblarlar ve mikroskop altındaki incelemede mavi renk ile boyanırlar. Canlı hücreler ise boyanmazlar.

İnkübasyon sonucunda 20 µl hücre süspansiyonu, 20 µl %0,4'lük Trypan Blue boyası ile seyreltilmiş ve bu seyreltilen süspansiyondan 10 µl alınıp thoma lamına yayıldıktan sonra ışık mikroskobu altında hücreler sayılmıştır. Canlılık yüzdesi aşağıda gösterilen şekilde hesaplanmıştır.

$$\text{Canlılık (\%)} = (\text{Canlı Hücre} / \text{Toplam Hücre}) \times 100$$

Her test maddesi için canlılık oranının en az %80 değerinde olması gerekir.

### 3.2.7. Liziz

İnkübasyondan sonra ependorflar, 3000 rpm'de 5 dakika santrifüj edilmiştir. Her ependorftan 100 µl süpernatant atılmış ve yerine 100 µl 37°C RPMI 1640 eklenmiştir. Bu ependorflar ve Agarose Low Gelling solüsyonu içeren beher, karanlık bir odadaki 37°C'deki su banyosuna koyulmuştur. Daha sonra her ependorfa 250 µl Agarose Low Gelling koyulup pipetaj yapılmış ve o ependorfa ait deneyden bir gün önce hazırlanmış olan Agarose Type VI-A High Gelling ile kaplı lamlara 100 µl yayarak damlatılıp lamel ile kapatılmıştır. Lamalar 15 dakika 4°C'de bekletilmiştir.

Dolaptan çıkarılan lamaların üzerindeki lameller kaldırılarak alüminyum folyo ile sarılı yatay şalelere yerleştirilmiş ve üzerlerine liziz solüsyonu dökülerek 1 gece 4°C'de lizize bırakılmıştır.

Agarose Low Gelling Solüsyonu: 0,14 gr Agarose Low Gelling ile 20 ml PBS solüsyonu karıştırılarak mikrodalgada ısıtılır.

### 3.2.8. Elektroforez

Liziz işlemi bittikten sonra lamalar elektroforez tankına yerleştirilip, güç kaynağı çalıştırılmadan önce running buffer içerisinde DNA'nın açılabilmesi için 20 dakika bekletilmiştir. Süre bitiminde elektroforez tankına bağlı güç kaynağı 25 Volt, 300 Amper ve 25 dakikaya ayarlanarak çalıştırılmıştır. Bu işlemin soğukta gerçekleşmesi gerektiği için tankın üzerine buz kalıpları yerleştirilmiştir.

### 3.2.9. Nötralizasyon

Yürütmenin ardından lamalar alüminyum folyo ile sarılı yatay şalelere yerleştirilmiş ve üzerlerine nötralizasyon buffer dökülerek 5 dakika 4°C'de bekletilmiştir. Daha sonra deneyden 1 gün önce 4°C'de bekletilen distile suyla lamalar yıkanmış ve ışık almayan bir yerde kurutulmuştur.

### 3.2.10. DNA'nın boyanması ve cometlerin görüntülenmesi

Kuruyan lamaların üzerine 20 µg/ml Ethidium Bromide, 30 µl yayılarak lamelle kapatılmıştır. Daha sonra floresan mikroskopunda incelenmiş ve her bir doz için 50 adet hücre görüntüsü kaydedilmiştir. İki donörden her bir doz için elde edilen toplam 100 adet hücre, kuyruk uzunluğu, kuyruk yoğunluğu ve kuyruk momenti cinsinden Comet Assay IV programı kullanılarak değerlendirilmiştir.

### **3.2.11. İstatistiksel analiz**

Comet testi ile yapılan deneysel çalışmalara ait veriler, SPSS 22 programında Tamhane Testi ile analiz edilerek ortalama değerler (ort.  $\pm$  SS) ile anlamlılık değerleri (\*  $P \leq 0.05$ , \*\*  $P \leq 0.01$ , \*\*\*  $P \leq 0.001$ ) hesaplanmıştır.

### **3.3. HPRT Testi**

Bu çalışmada anyonik yüzey aktif maddesi olan SLS ve SLES 70'in gen mutasyonu oluşturma etkisi varyans frekans değerleri ile belirlenmiştir.

#### **3.3.1. HPRT testinde kullanılan deney ekipmanları ve kimyasallar**

Steril kabin, enjektör, su banyosu, falcon tüp, tüplük, inkübatör, mikropipet, mikropipet uçları, endorf, cam şişe, tartı, hassas terazi, manyetik balık, buzdolabı, santrifüj, pasteur pipet, beher, lam, lamel, dikey şale, mikroskop.

SLS (Zag Kimya), SLES 70 (Biotechsa), Kromozom medyum (Gibco), Heparin (Nevparin), Methyl methanesulfonate (Merck), 6-Thioguanine (Alfa Aesar), Giemsa (Sigma), Cytochalin B (Sigma), HNO<sub>3</sub> (Sigma), NaCl (Sigma), KCl (Merck), Acetic acid (Riedel-de Haën), Methanol (Riedel-de Haën), KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (Merck), NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (Merck).

#### **3.3.2. HPRT testi için dozların belirlenmesi**

HPRT testinde uygulanacak dozlar belirlenirken, CBMN testinde kullanılan dozlar referans alınmıştır.

#### **3.3.3. Lenfosit kültürü**

Sağlıklı, sigara içmeyen, düzenli olarak ilaç ve alkol kullanmayan, 25-30 yaş arası 1 erkek ve 1 bayandan steril koşullarda kan alınmıştır. Alınan kan, 0,2 ml (6 damla) olacak şekilde steril kabinde 2,5 ml kromozom medyumunu (37°C) bulunan tüplere ilave edilmiş ve %5'lik CO<sub>2</sub> inkübatöründe 37°C'de toplam 72 saat inkübasyona bırakılmıştır. Steril kabinde yapılması ile ortamdaki kaynaklanacak kontaminasyon riski en aza indirgenmiştir. Ayrıca kullanılan kromozom medyumuna Heparin içermediği için, bir kromozom medyumunda bulunması gereken miktar literatür taraması yapılarak bulunmuş ve kullanılan her 100 ml'lik kromozom medyumuna 500 µl Heparin eklenmiştir.

### 3.3.4. Test maddelerinin uygulanması

Periferel kan, her doz için iki adet tüp olmak üzere kromozom medyumuna ilave edilmiştir. Her doz (SLS ve SLES 70'in belirlenen dozları, pozitif kontrol olan 0,02 µl/ml Methyl Methane Sulfonat ve SLS ile SLES 70'i seyrelmek için kullanılan çözücü olan distile su) 2 tüpe 50 µl olarak eklenmiş ve 24 saat 37°C'de madde maruziyetine bırakılmıştır. Maruziyet süresi bitiminde tüpler 1200 rpm'de 15 dakika santrifüj edilmiş ve test maddelerinin uzaklaştırılması için süpernatant atılıp yerine 2,5 ml 37°C yeni kromozom medyumuna eklenmiştir. Tüpler, iki gruba ayrılmış ve sadece bir gruba 10 µl/ml 6-Thioguanine, 50 µl eklenmiştir. Ayrıca sitokinezi bloke etmek için 32. saatte 6 µg/ml Cytochalasin B, 50 µl olarak her tüpe ilave edilmiştir. 72 saat sonuna kadar inkübasyona devam edilmiştir. Bu işlemler yine steril kabinde yapılarak ortamdaki kaynaklanacak kontaminasyon riski en aza indirgenmiştir.

### 3.3.5. Lenfosit izolasyonu

72 saat inkübasyon süresi bitmeden 2 saat önce %0,4 KCl hazırlanıp 37°C'deki inkübatöre kaldırılmış, 5:1 oranında Methanol ile Acetic acid içeren fiksatif 2 ve 1:1 oranında fiksatif 2 ile %0,9 NaCl içeren fiksatif 1 hazırlanıp 4°C'deki buzdolabına kaldırılmıştır. 72 saat süren inkübasyonun bitiminde tüpler 1200 rpm'de 30 dakika santrifüj edilmiş, santrifüjden çıktıktan sonra süpernatant kısımları tüp içeriği 1 ml kalana kadar atılmıştır. Tüplerin dibinde kalan hücrelerin homojen hale gelmesi için pasteur pipeti ile hafifçe pipetaj yapılmıştır. Daha sonra her tüpe 37°C'de bekleyen %0,4 KCl, 7 ml ilave edilmiş ve oda sıcaklığında 10 dakika bekletilmiştir. Süre bitiminde kültür tüpleri, 1200 rpm'de 15 dakika santrifüj edilmiş, süpernatant kısımları tüp içeriği 1 ml kalana kadar atılmıştır. Tüpün dibinde kalan kısım pasteur pipeti ile homojen hale getirildikten sonra, 4°C'de bekleyen fiksatif 1 her tüpe 6 ml ilave edilmiş ve oda sıcaklığında 15 dakika bekletilmiştir. Süre bitiminin ardından tüpler tekrar 1200 rpm'de 15 dakika santrifüj edilmiş, süpernatant kısımları tüp içeriği 1 ml kalana kadar atılmıştır. Tüpün dibinde kalan kısım pasteur pipeti ile homojen hale getirildikten sonra, 4°C'de bekleyen fiksatif 2 her tüpe 6 ml ilave edilmiş ve oda sıcaklığında 15 dakika bekletilmiştir. Süre bitiminin ardından tüpler tekrar 1200 rpm'de 15 dakika santrifüj edilmiş, süpernatant kısımları tüp içeriği 1 ml kalana kadar atılmıştır. Tüpün dibinde kalan kısım pasteur pipeti ile homojen hale getirildikten sonra, 4°C'de bekleyen fiksatif 2 yine her tüpe 6 ml ilave edilmiş ve oda sıcaklığında 15 dakika bekletilmiştir. Süre

bitiminin ardından tüpler tekrar 1200 rpm'de 15 dakika santrifüj edilmiş, süpernatant kısımları tüp içeriği 0,7 ml kalana kadar atılmış, böylece kalan hücreler preparat haline getirilme işlemine hazırlanmıştır.

### **3.3.6. Preparatların hazırlanması**

Deneyin 2. gününde her tüp için 3 lam olacak şekilde lamalar dikey şalelere dizilmiş ve 1N HNO<sub>3</sub> ile 24 saat muamele edilmiştir. Süre bitiminin sonunda şalelerin 15 dakika akan musluk suyu altında bekletilip yıkanması sağlanmıştır. Yıkama işlemi bittikten sonra 3 kez distile sudan geçirilip, yine distile su içinde buzdolabına kaldırılmıştır. Buzdolabında bekletilen lamaların üzerine 0,7 ml olarak tüpte kalan hücreler 10 cm yükseklikten ve her biri farklı bir alana denk gelecek şekilde 6 damla olmak üzere 3 lama damlatılmıştır. Her bir doz için hazırlanan 3 adet preparat oda ısısında kurumaya bırakılmıştır.

### **3.3.7. Preparatların boyanması**

Kuruyan lamalar yine dikey şalelere dizilmiş ve %5'lik Giemsa boyasında 9 dakika bekletilerek boyanmıştır. Daha sonra distile su ile yıkanarak kurumaya bırakılmıştır. Kuruyan preparatlar entellan ile kapatılarak daimî hale getirilmiştir. Daha sonra mikroskopta inceleme yapılmıştır.

%5'lik Giemsa'nın Hazırlanması: 5 ml tampon A (4,536 g KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 100 ml ultra saf su içerisinde karıştırılarak hazırlanır), 5 ml tampon B (5,932 g NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 100 ml ultra saf su içerisinde karıştırılarak hazırlanır), 5 ml Giemsa ve 85 ml ultra saf su.

Bu boya filtre kâğıdı ile behere süzöldükten sonra boyama işlemi yapılmıştır.

### **3.3.8. Varyans frekans değerinin hesaplanması**

Her bir doz için, bölünen (2, 3 ve 4 çekirdekli) hücre ve bölünmeyen (bir çekirdekli) hücre olmak üzere toplam 1000 adet hücre sayılmıştır.

Varyans frekansı değerleri; 6-Thioguanine ile muamele edilmiş hücrelerdeki toplam 1000 hücre içinde bölünen hücre sayısının, 6-Thioguanine ile muamele edilmemiş hücrelerdeki toplam 1000 hücre içinde bölünen hücre sayısına oranı ile hesaplanmıştır.

### 3.3.9. İstatistiksel analiz

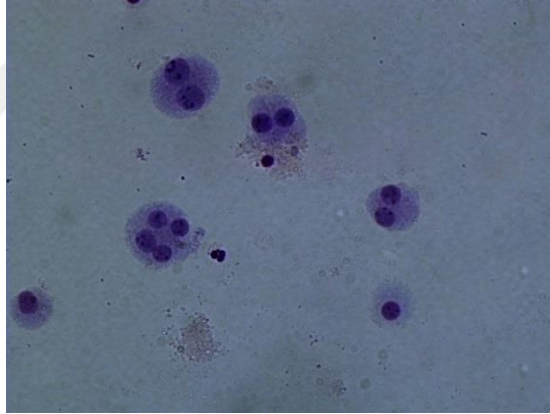
HPRT testi ile yapılan deneysel çalışmalara ait veriler, SPSS 22 programında Dunnet T3 Testi ile analiz edilerek ortalama değerler (ort.  $\pm$  SS) ile anlamlılık değerleri (\*  $P \leq 0.05$ , \*\*  $P \leq 0.01$ , \*\*\*  $P \leq 0.001$ ) hesaplanmıştır.



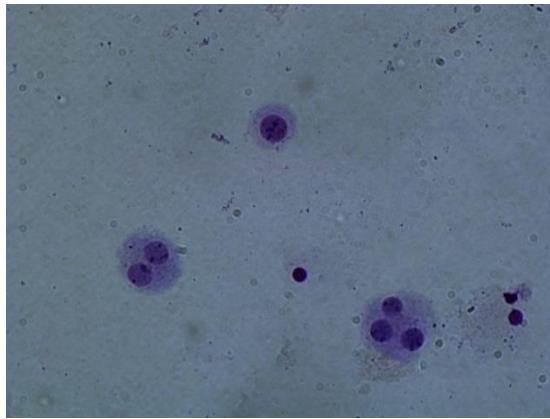
## 4. BULGULAR

### 4.1. SLS ve SLES 70'in Mikronükleus Oluşumu ve Hücre Proliferasyonu Üzerine Etkisi

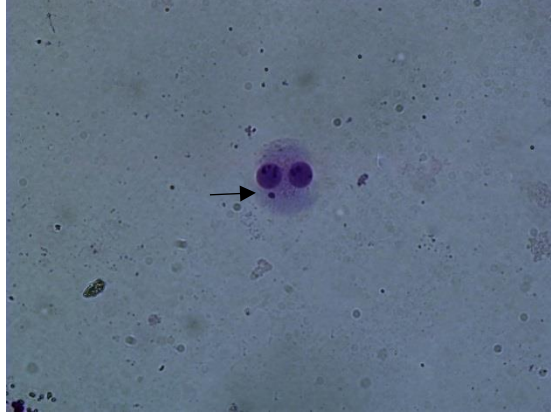
CBMN testi ile SLS ve SLES 70'in dozlarıyla 24 ve 48 saat muamele edilen insan periferik lenfosit hücrelerindeki klastojenik etki mikronükleus miktarı sayılarak, sitotoksik etki ise CPI değerleri hesaplanarak değerlendirilmiştir. İki donörle yapılan bu çalışmada, SLS ve SLES 70'in mikronükleus sayıları ve CPI değerleri her bir doz için 1000 adet olmak üzere toplam 2000 hücrede incelenmiş ve kontrol grubu olan spontan ile karşılaştırılarak istatistiksel açıdan değerlendirilmiştir. Her doza ait 1000 hücre Olympus marka mikroskopta sayılmıştır (Şekil 4.1, Şekil 4.2 ve Şekil 4.3). Elde edilen mikronükleus sayıları ve CPI değerleri SPSS 22 programında yer alan Dunnett T3 Testi ile kontrol grubuyla karşılaştırılarak istatistiksel veriler elde edilmiştir (Tablo 4.1 ve Tablo 4.2).



Şekil 4.1. Bir, iki ve dört çekirdekli lenfosit hücreler (40x)



Şekil 4.2. Bir, iki ve üç çekirdekli lenfosit hücreler (40x)



Şekil 4.3. Mikronükleuslu iki çekirdekli lenfosit hücre (40x)

Tablo 4.1. İnsan lenfosit hücrelerinin SLS'nin dozları ile 24 ve 48 saat muamelesi sonucu elde edilen ortalama MN sayıları ve CPI değerleri

24 Saat				
Madde	Doz	İncelenen Hücre Sayısı	Ort. MN ( $\pm$ SS)	Ort. CPI ( $\pm$ SS)
Spontan	-	2000	3,50 $\pm$ 0,29	0,29 $\pm$ 0,02
Çözücü (su)	-	2000	3,50 $\pm$ 0,29	0,28 $\pm$ 0,01
MMC	0,3 $\mu$ g/ml	2000	16,00 $\pm$ 1,16***	0,11 $\pm$ 0,01***
Sodium Lauryl Sulfate	%6	2000	9,50 $\pm$ 0,29**	0,16 $\pm$ 0,01***
	%4	2000	7,50 $\pm$ 0,29*	0,18 $\pm$ 0,01**
	%2	2000	6,50 $\pm$ 0,29*	0,21 $\pm$ 0,01**
	%1	2000	4,50 $\pm$ 0,29	0,24 $\pm$ 0,01
48 Saat				
Madde	Doz	İncelenen Hücre Sayısı	Ort. MN ( $\pm$ SS)	Ort. CPI ( $\pm$ SS)
Spontan	-	2000	3,50 $\pm$ 0,29	0,29 $\pm$ 0,01
Çözücü (su)	-	2000	4,50 $\pm$ 0,29	0,26 $\pm$ 0,01
MMC	0,3 $\mu$ g/ml	2000	26,50 $\pm$ 0,86***	0,04 $\pm$ 0,00***
Sodium Lauryl Sulfate	%6	toksik	-	-
	%4	2000	9,50 $\pm$ 0,29**	0,15 $\pm$ 0,00***
	%2	2000	8,00 $\pm$ 0,00*	0,19 $\pm$ 0,01**
	%1	2000	5,50 $\pm$ 0,29*	0,22 $\pm$ 0,01*

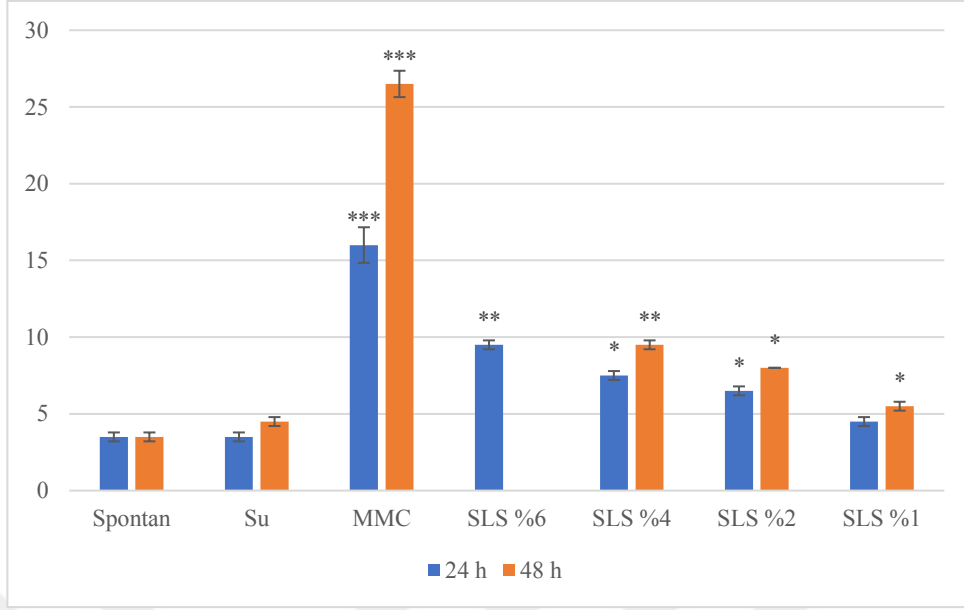
MN: Mikronukleus, MMC: Mitomisin-C, CPI: Hücre Proliferasyon İndeksi

$\pm$  SS: Standart sapma değerleri, \*  $P \leq 0.05$ , \*\*  $P \leq 0.01$ , \*\*\*  $P \leq 0.001$  (Dunnett T3 testi)

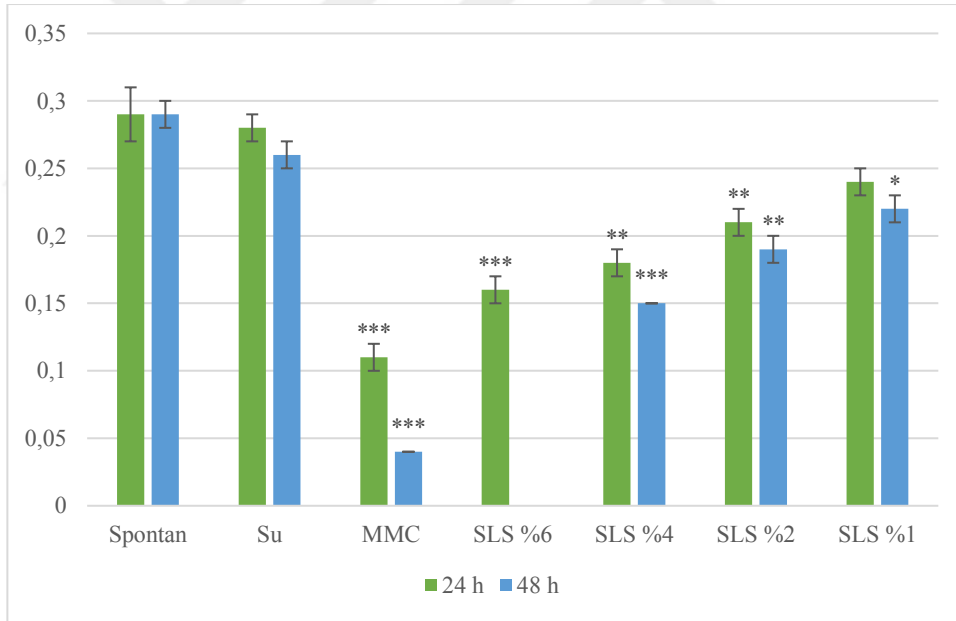
P: İstatistiksel olarak anlamlı farklılık

Elde edilen istatistiki veriler sonucunda, SLS'nin %6'lık konsantrasyonunun 24 saatlik maruziyetteki MN sayısı kontrole göre \*\*  $P \leq 0.01$  anlamlılık değeri ve CPI değeri kontrole göre \*\*\*  $P \leq 0.001$  anlamlılık değeri gsterirken, 48 saatlik maruziyette toksik etki gstermiştir. SLS'nin %4'luk konsantrasyonunun 24 saatlik maruziyetteki MN sayısı kontrole gbre \*  $P \leq 0.05$  anlamlılık değeri ve CPI değeri kontrole gbre \*\*  $P \leq 0.01$  anlamlılık değeri gsterirken, 48 saatlik maruziyette MN sayısı kontrole gbre \*\*  $P \leq 0.01$  ve CPI değeri kontrole gbre \*\*\*  $P \leq 0.001$  anlamlılık değeri gstermiştir. SLS'nin %2'lik konsantrasyonunun 24 ve 48 saatlik maruziyetteki MN sayısı kontrole gbre \*  $P \leq 0.05$  anlamlılık değeri ve CPI değeri kontrole gbre \*\*  $P \leq 0.01$  anlamlılık değeri gstermiştir. SLS'nin %1'lik konsantrasyonunun 24 saatlik maruziyetteki MN sayısı ve CPI değeri kontrole gbre anlamlı bir fark gstermezken, 48 saatlik maruziyetteki MN sayısı ve CPI değeri kontrole gbre \*  $P \leq 0.05$  anlamlılık değeri gstermiştir.

MN sayısındaki artış klastojenik etkiyi gsterirken, CPI değerindeki azalma sitotoksik etkiyi gsterir. SLS'nin dozlarının lenfosit hcrelerindeki ortalama MN sayıları grafiksel olarak Şekil 4.4'te verilirken, ortalama CPI değerleri grafiksel olarak Şekil 4.5'te verilmiştir.



**Şekil 4.4.** SLS'nin ortalama MN sayısı üzerine etkisi. Dozların spontana göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık değerleri, \*  $P \leq 0.05$ , \*\*  $P \leq 0.01$ , \*\*\*  $P \leq 0.001$  ile gösterilmiştir.



**Şekil 4.5.** SLS'nin ortalama CPI değeri üzerine etkisi. Dozların spontana göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık değerleri, \*  $P \leq 0.05$ , \*\*  $P \leq 0.01$ , \*\*\*  $P \leq 0.001$  ile gösterilmiştir.

**Tablo 4.2.** İnsan lenfosit hücrelerinin SLES 70'in dozları ile 24 ve 48 saat muamelesi sonucu elde edilen ortalama MN sayıları ve CPI değerleri

24 Saat				
Madde	Doz	İncelenen Hücre Sayısı	Ort. MN ( $\pm$ SS)	Ort. CPI ( $\pm$ SS)
Spontan	-	2000	3,50 $\pm$ 0,29	0,25 $\pm$ 0,01
Çözücü (su)	-	2000	4,00 $\pm$ 0,00	0,24 $\pm$ 0,00
MMC	0,3 $\mu$ g/ml	2000	17,00 $\pm$ 1,16***	0,11 $\pm$ 0,00***
Sodium Laureth Sulfate 70	%0,10	2000	10,00 $\pm$ 0,58**	0,15 $\pm$ 0,00***
	%0,08	2000	8,00 $\pm$ 0,58*	0,17 $\pm$ 0,00**
	%0,06	2000	6,00 $\pm$ 0,58*	0,20 $\pm$ 0,00*
	%0,04	2000	5,50 $\pm$ 0,29*	0,22 $\pm$ 0,00
48 Saat				
Madde	Doz	İncelenen Hücre Sayısı	Ort. MN ( $\pm$ SS)	Ort. CPI ( $\pm$ SS)
Spontan	-	2000	4,00 $\pm$ 0,00	0,25 $\pm$ 0,01
Çözücü (su)	-	2000	4,50 $\pm$ 0,29	0,22 $\pm$ 0,00
MMC	0,3 $\mu$ g/ml	2000	27,50 $\pm$ 2,02***	0,02 $\pm$ 0,00***
Sodium Laureth Sulfate 70	%0,10	2000	11,50 $\pm$ 0,29**	0,13 $\pm$ 0,00***
	%0,08	2000	9,50 $\pm$ 0,87**	0,15 $\pm$ 0,00***
	%0,06	2000	7,50 $\pm$ 0,29*	0,17 $\pm$ 0,00**
	%0,04	2000	6,00 $\pm$ 0,00*	0,20 $\pm$ 0,00*

MN: Mikronukleus, MMC: Mitomisin-C, CPI: Hücre Proliferasyon İndeksi

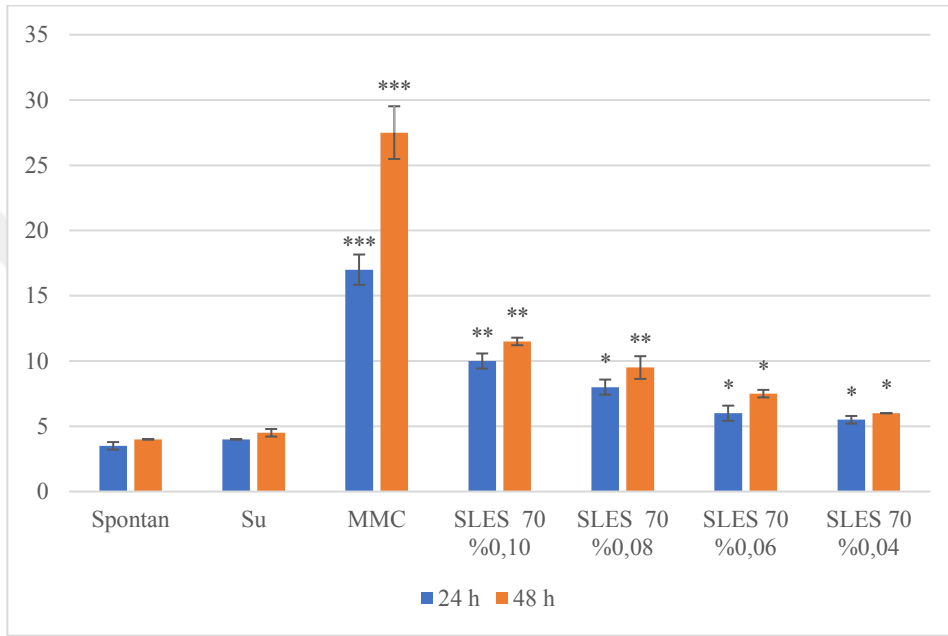
$\pm$  SS: Standart sapma değerleri, \*  $P \leq 0.05$ , \*\*  $P \leq 0.01$ , \*\*\*  $P \leq 0.001$  (Dunnett T3 testi)

P: İstatistiksel olarak anlamlı farklılık

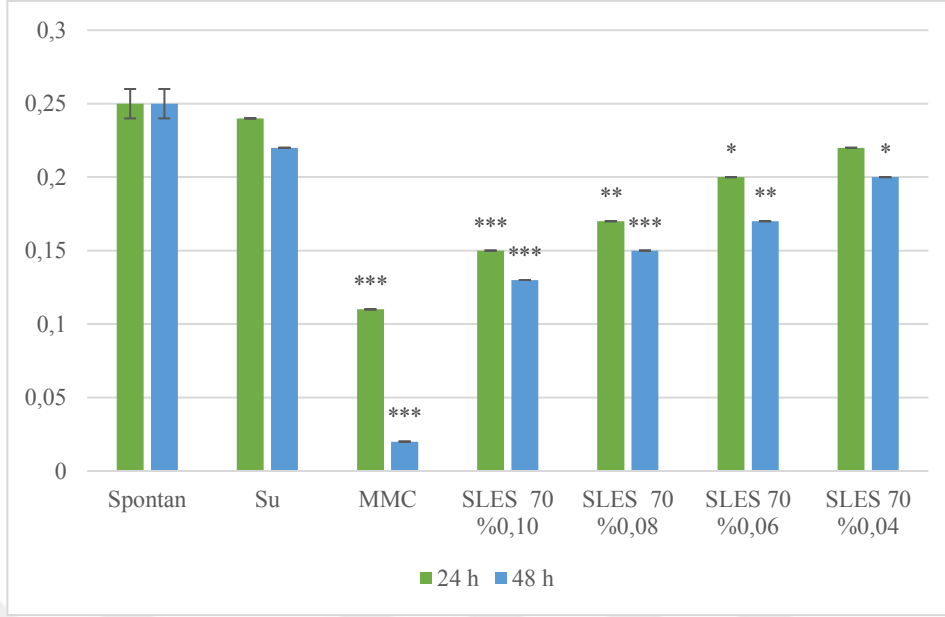
Elde edilen istatistiki veriler sonucunda, SLES 70'in %0,10'luk konsantrasyonunun 24 ve 48 saatlik maruziyetteki MN sayısı kontrole göre \*\*  $P \leq 0.01$  anlamlılık değeri ve CPI değeri kontrole göre \*\*\*  $P \leq 0.001$  anlamlılık değeri göstermiştir. SLES 70'in %0,08'lik konsantrasyonunun 24 saatlik maruziyetteki MN sayısı kontrole göre \*  $P \leq 0.05$  anlamlılık değeri ve CPI değeri kontrole göre \*\*  $P \leq 0.01$  anlamlılık değeri gösterirken, 48 saatlik maruziyetteki MN sayısı kontrole göre \*\*  $P \leq 0.01$  anlamlılık değeri ve CPI değeri kontrole göre \*\*\*  $P \leq 0.001$  anlamlılık değeri göstermiştir. SLES 70'in %0,06'lık konsantrasyonunun 24 saatlik maruziyetteki MN sayısı ve CPI değeri kontrole göre \*  $P \leq 0.05$  anlamlılık değeri gösterirken, 48 saatlik maruziyetteki MN sayısı kontrole göre \*  $P \leq 0.05$  anlamlılık değeri ve CPI değeri kontrole göre \*\*  $P \leq 0.01$  anlamlılık değeri

göstermiştir. SLES 70'in %0,04'lük konsantrasyonunun 24 saatlik maruziyetteki MN sayısı kontrole göre \*  $P \leq 0.05$  anlamlılık değeri gösterirken ve CPI değeri kontrole göre anlamlı bir fark göstermemişken, 48 saatlik maruziyetteki MN sayısı ve CPI değeri kontrole göre \*  $P \leq 0.05$  anlamlılık değeri göstermiştir.

SLES 70'in dozlarının lenfosit hücrelerindeki ortalama MN sayıları grafiksel olarak Şekil 4.6'da verilirken, ortalama CPI değerleri grafiksel olarak Şekil 4.7'de verilmiştir.



**Şekil 4.6.** SLES 70'in ortalama MN sayısı üzerine etkisi. Dozların spontana göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık değerleri, \*  $P \leq 0.05$ , \*\*  $P \leq 0.01$ , \*\*\*  $P \leq 0.001$  ile gösterilmiştir.



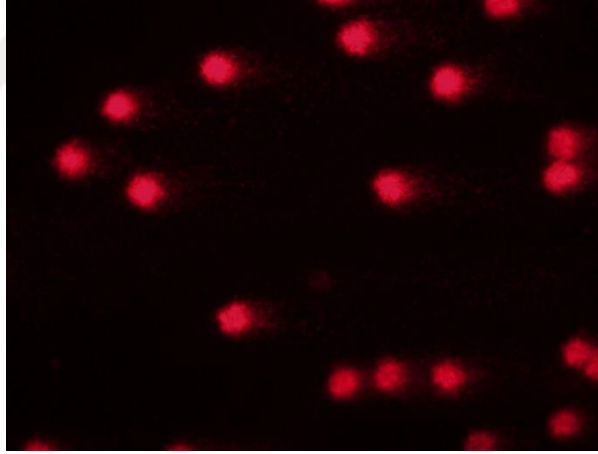
**Şekil 4.7.** SLES 70'in ortalama CPI değeri üzerine etkisi. Dozların spontana göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık değerleri, \*  $P \leq 0.05$ , \*\*  $P \leq 0.01$ , \*\*\*  $P \leq 0.001$  ile gösterilmiştir.

#### 4.2. SLS ve SLES 70'in DNA Hasarı Üzerine Etkisi

Comet testi ile SLS ve SLES 70'in dozlarıyla 2 ve 24 saat muamele edilen insan periferik lenfosit hücrelerindeki DNA hasarı incelenmiştir. 24 saat muamele sonucunda canlılık sağlanamamıştır. Bu yüzden 2 saat muamele edilen çalışma verileri değerlendirilmiştir. İki donörle yapılan bu çalışmada, SLS ve SLES 70'in Comet parametreleri her bir doz için 50 adet olmak üzere toplam 100 hücrede incelenmiş ve kontrol grubu olan spontan ile karşılaştırılarak istatistiksel açıdan değerlendirilmiştir. Her doza ait 100 hücre Olympus marka floresan mikroskopuyla çekilmiş (Şekil 4.8 ve Şekil 4.9) ve Comet Assay IV programı kullanılarak kuyruk uzunluğu (tail length), kuyruk yoğunluğu (tail intensity) ve kuyruk momenti (tail moment) cinsinden değerlendirilmiştir. Elde edilen değerler, SPSS 22 programında yer alan Tamhane Testi ile kontrol grubuyla karşılaştırılarak istatistiksel veriler elde edilmiştir (Tablo 4.3).



**Şekil 4.8.** *DNA hasarı olmayan normal lenfosit hücreler (40x)*



**Şekil 4.9.** *DNA hasarı olan kuyruklu lenfosit hücreler (40x)*

**Tablo 4.3.** SLS ve SLES 70'in dozları ile 2 saat muamele edilmiş insan periferel lenfosit hücrelerindeki DNA hasarı

Madde ve Dozları	Kuyruk Uzunluğu	Kuyruk Yoğunluğu	Kuyruk Momenti
	MEAN ± SS Değeri	MEAN ± SS Değeri	MEAN ± SS Değeri
Spontan N:100	53,61±0,88	10,01±1,03	1,64±0,67
Çözücü (su) N:100	54,42±0,72	10,47±1,19	1,87±0,21
H2O2 50 µM N:100	167,50±6,88***	37,74±2,93***	22,10±2,61***
SLS %6 N:100	78,25±4,06***	27,43±3,07***	7,32±1,14***
SLS %4 N:100	68,57±3,68**	16,21±1,78**	4,77±1,03**
SLS %2 N:100	65,38±2,61**	15,67±2,03**	4,56±0,68**
SLS %1 N:100	54,38±2,20	12,76±1,77	3,18±0,62
SLES 70 %0,10 N:100	75,24±4,46***	20,93±1,87***	7,11±1,62***
SLES 70 %0,08 N:100	67,75±3,86**	17,03±1,62**	6,81±1,43**
SLES 70 %0,06 N:100	64,43±3,74**	15,04±1,32**	4,40±1,01**
SLES 70 %0,04 N:100	58,20±3,73	13,91±1,34	3,89±0,76

SLS: Sodyum lauryl sulfat, SLES 70: Sodyum laureth sulfat 70

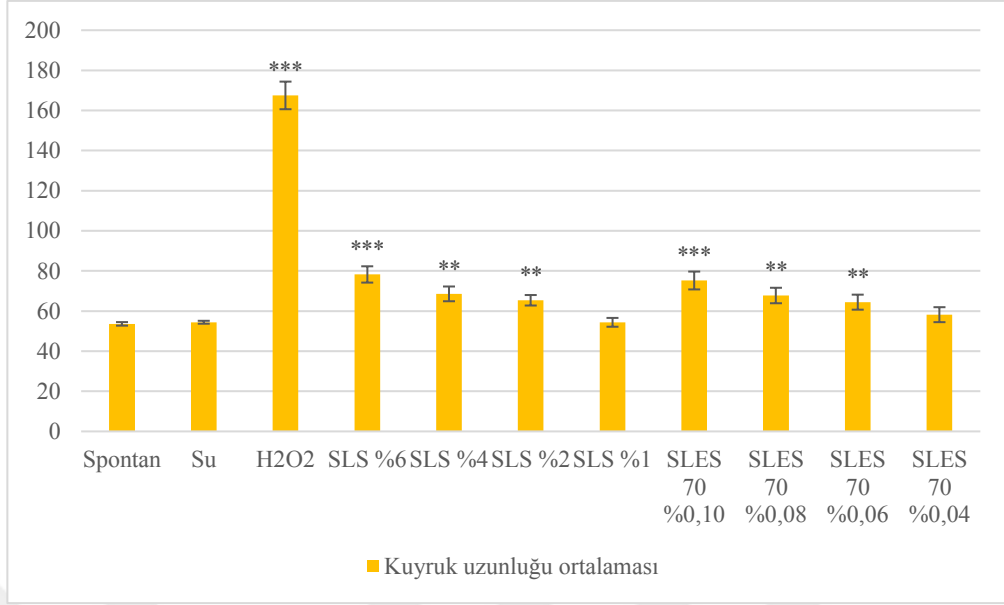
H2O2: Hidrojen Peroksit, N: Hücre sayısı, MEAN: ortalama,

SS: Standart sapma değerleri, \*  $P \leq 0.05$ , \*\*  $P \leq 0.01$ , \*\*\*  $P \leq 0.001$  (Tamhane Testi)

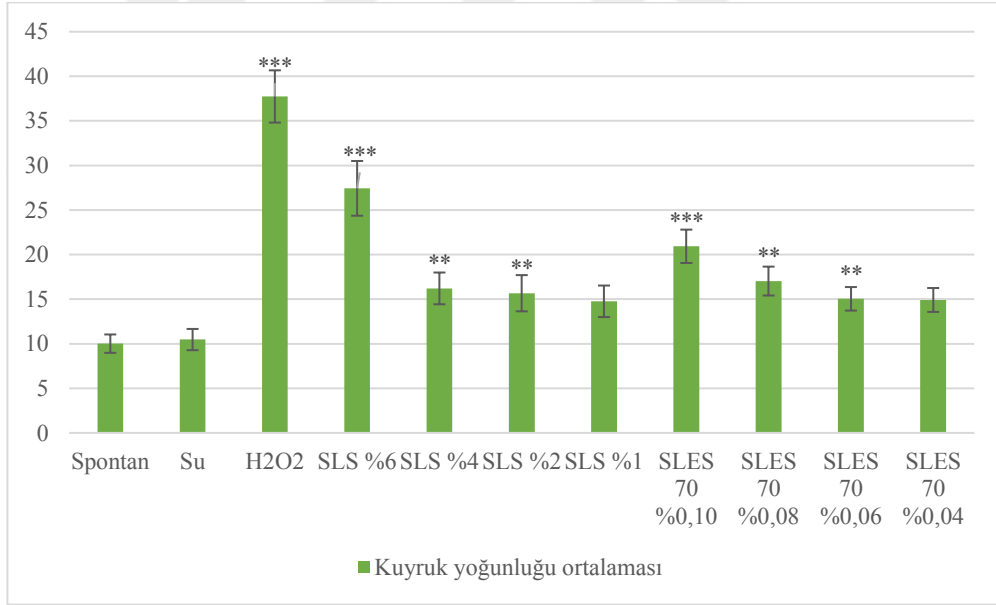
P: İstatistiksel olarak anlamlı farklılık

Elde edilen istatistiki veriler sonucu SLS'nin %6'lık konsantrasyonu ile SLES 70'in %0,10'luk konsantrasyonunun kuyruk uzunluğu, kuyruk yoğunluğu ve kuyruk momentindeki artış kontrole göre \*\*\*  $P \leq 0.001$  anlamlılık değeri göstermiştir. SLS'nin %4'lük ve %2'lik konsantrasyonu ile SLES 70'in %0,08'lik ve %0,06'lık konsantrasyonunun kuyruk uzunluğu, kuyruk yoğunluğu ve kuyruk momentindeki artış kontrole göre \*\*  $P \leq 0.01$  anlamlılık değeri gösterirken, SLS'nin %1'lik konsantrasyonu ve SLES 70'in %0,04'lük konsantrasyonunun kuyruk uzunluğu, kuyruk yoğunluğu ve kuyruk momentindeki artış kontrole göre anlamlı bir fark göstermemiştir.

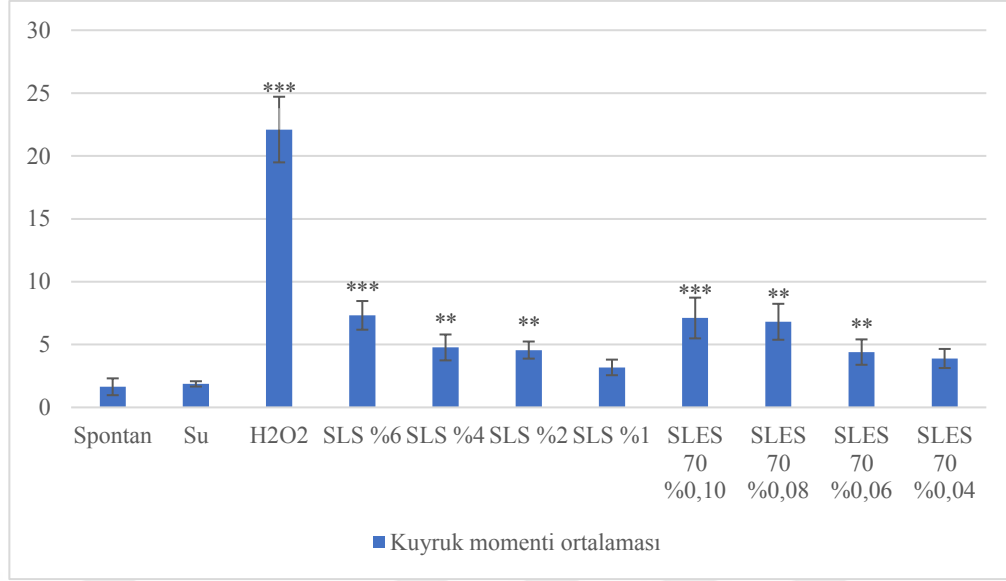
Kuyruk uzunluğu, kuyruk yoğunluğu ve kuyruk momentindeki artış, DNA ipliğinde tek ya da çift zincir kırılmalarıyla gerçekleşen DNA hasarının göstergesidir. SLS ve SLES 70'in insan lenfosit hücrelerinde oluşturduğu kuyruk uzunluğu ortalamaları Şekil 4.10'da, kuyruk yoğunluğu ortalamaları Şekil 4.11'de ve kuyruk momentini ortalamaları Şekil 4.12'de grafiksel olarak gösterilmiştir.



**Şekil 4.10.** SLS ve SLES 70'in dozları ile 2 saat muamele edilmiş insan periferel lenfosit hücrelerindeki DNA hasarının kuyruk uzunluğu ile karşılaştırılması. Dozların spontana göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık değerleri, \*  $P \leq 0.05$ , \*\*  $P \leq 0.01$ , \*\*\*  $P \leq 0.001$  ile gösterilmiştir.



**Şekil 4.11.** SLS ve SLES 70'in dozları ile 2 saat muamele edilmiş insan periferel lenfosit hücrelerindeki DNA hasarının kuyruk yoğunluğu ile karşılaştırılması. Dozların spontana göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık değerleri, \*  $P \leq 0.05$ , \*\*  $P \leq 0.01$ , \*\*\*  $P \leq 0.001$  ile gösterilmiştir.



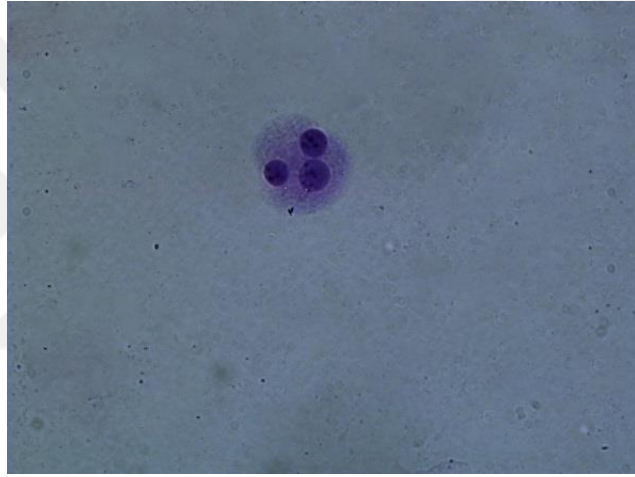
**Şekil 4.12.** SLS ve SLES 70'in dozları ile 2 saat muamele edilmiş insan periferik lenfosit hücrelerindeki DNA hasarının kuyruk momenti ile karşılaştırılması. Dozların spontana göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık değerleri, \*  $P \leq 0.05$ , \*\*  $P \leq 0.01$ , \*\*\*  $P \leq 0.001$  ile gösterilmiştir.

#### 4.3. SLS ve SLES 70'in Gen Mutasyonu Üzerine Etkisi

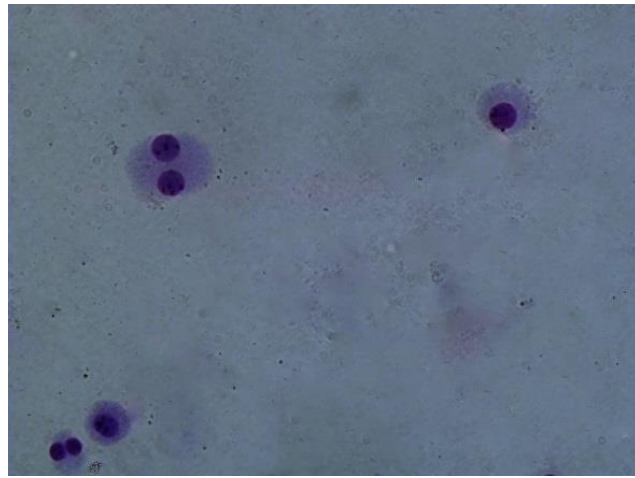
SLS ve SLES 70'in dozlarıyla 24 saat muamele edilen insan periferik lenfosit hücrelerindeki olası gen mutasyonları HPRT testiyle değerlendirilmiştir. İki donörle yapılan bu çalışmada, SLS ve SLES 70'in her bir dozu için 1000 adet olmak üzere toplam 2000 hücre incelenmiş ve kontrol grubu olan spontan ile karşılaştırılarak istatistiksel açıdan değerlendirilmiştir. Her doza ait 1000 hücre Olympus marka ışık mikroskopuyla sayılmıştır (Şekil 4.13, Şekil 4.14 ve Şekil 4.15). 6-TG ile muamele edilmiş 1000 hücre içindeki bölünen hücre sayısının, 6-TG'ye maruz kalmamış 1000 hücre içindeki bölünen hücre sayısına oranı ile varyans frekans değerleri hesaplanmıştır. Hesaplanan varyans değerleri SPSS 22 programında yer alan Dunnett T3 Testi ile kontrol grubuyla karşılaştırılarak istatistiksel veriler elde edilmiştir (Tablo 4.4).



**Şekil 4.13.** *Dört çekirdekli lenfosit hücre (40x)*



**Şekil 4.14.** *Üç çekirdekli lenfosit hücre (40x)*



**Şekil 4.15.** *Bir ve iki çekirdekli lenfosit hücreler (40x)*

**Tablo 4.4.** İnsan lenfosit hücrelerinin SLS ve SLES 70'in dozları ile muamelesi sonucu oluşan ortalama varyans frekans değerleri

Madde	Doz	Sayılan hücre sayısı	Ort. varyans frekans değeri ± SS
Spontan	-	2000	0,54±0,13
Çözücü (Su)	-	2000	0,55±0,12
MMS	0,02 µL/ml	2000	1,40±0,05***
Sodium Lauryl Sulfate	%6	2000	0,83±0,04 **
	%4	2000	0,78±0,03**
	%2	2000	0,71±0,03*
	%1	2000	0,60±0,11
Sodium Laureth Sulfate 70	%0,10	2000	0,78±0,04**
	%0,08	2000	0,74±0,05**
	%0,06	2000	0,67±0,06*
	%0,04	2000	0,61±0,11

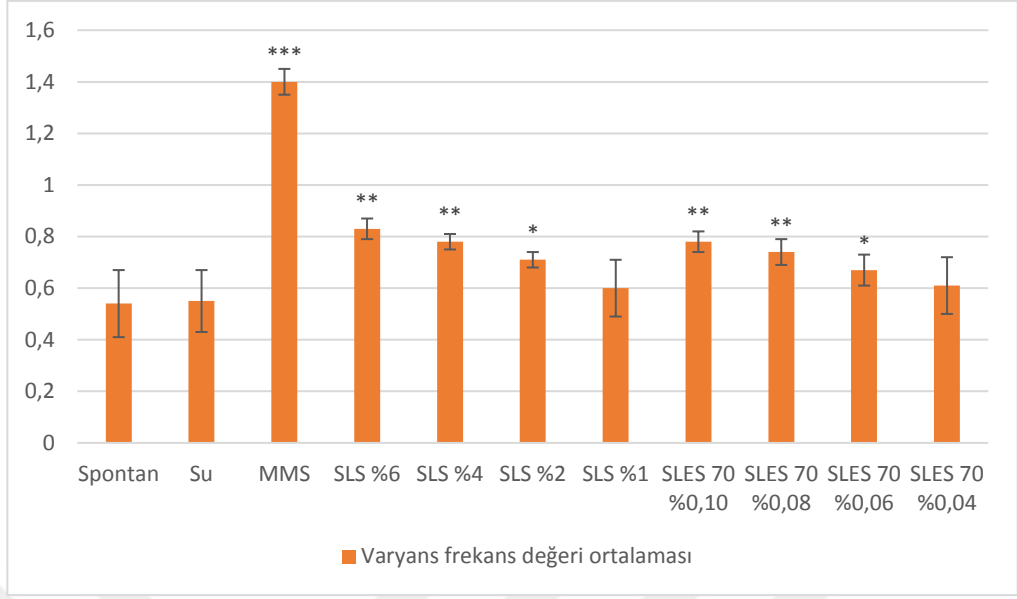
MMS: Methyl methanesulfonate

SS: Standart sapma değerleri, \*  $P \leq 0.05$ , \*\*  $P \leq 0.01$ , \*\*\*  $P \leq 0.001$  (Dunnet T3 Testi)

P: İstatistiksel olarak anlamlı farklılık

Varyans frekans değeri ne kadar yüksekse test edilen maddenin mutajenik etkisi o kadar fazladır. Elde edilen istatistiki veriler sonucu SLS'nin %6 ve %4 konsantrasyonları kontrole göre \*\*  $P \leq 0.01$  anlamlılık değeri göstermiştir. SLS'nin %2 konsantrasyonu kontrole göre \*  $P \leq 0.05$  anlamlılık değeri göstermiştir. SLES 70'in %0,10 ve %0,08 konsantrasyonları kontrole göre \*\*  $P \leq 0.01$  anlamlılık değeri gösterirken, %0,06 konsantrasyonu kontrole göre \*  $P \leq 0.05$  anlamlılık değeri göstermiştir. SLS'nin %1 konsantrasyonu ile SLES 70'in %0,04 konsantrasyonu kontrole göre anlamlı bir fark göstermemiştir.

SLS ve SLES 70'in dozlarının lenfosit hücrelerindeki ortalama varyans frekans değerleri grafiksel olarak Şekil 4.16'da verilmiştir.



**Şekil 4.16.** SLS ve SLES 70'in dozları ile muamele edilmiş insan periferel lenfositlerindeki gen mutasyonunun varyans frekans değeri ile karşılaştırılması. Dozların spontana göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık değerleri, \*  $P \leq 0.05$ , \*\*  $P \leq 0.01$ , \*\*\*  $P \leq 0.001$  ile gösterilmiştir.

## 5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Tükettiğimiz ürünlerde geçmişten günümüze kadar birçok kimyasal kullanılmaktadır. Bu yüzden ürünlerin klinik testlerinin yapılması tüketicilerin güvenliğini sağlamak için oldukça önemlidir. Ürünlerin güvenli olduğundan emin olmak için bu testlerin deneyimli kişiler tarafından yapılması ve yorumlanması gerekir. Ayrıca bu testlerde *in vitro* yöntemler giderek artmaktadır (Tonucci, 2005, s. 911-929).

SLS ve SLES neredeyse her kozmetik ve temizlik ürünlerinde bulunarak gündelik hayatımızda sürekli karşımıza çıkmaktadır. Dolayısıyla bu maddeleri içeren ürünlerle her gün temas halindeyiz.

Yapılan literatür araştırmalarında, SLS ve SLES'nin cilt kuruluşuna neden olduğu, proteinleri denatüre edebildiği, cilt tarafından emilebildiği gibi özellikleri bilinmektedir. Bu yüzden günlük yaşantıda bu maddeleri içeren ürünler çok fazla kullanıldığı için, bu maddelerin insan hücreleri üzerindeki sitotoksik etki düzeylerinin belirlenmesi ve sitotoksik olmayan konsantrasyonlarının ise genotoksik etkilerinin incelenmesi gerekir.

Bu çalışmada, SLS ve SLES 70'in sağlıklı insan lenfosit hücrelerindeki klastojenik aktivitesi CBMN testi ile, DNA tek ve çift ipliği üzerindeki genotoksik etkileri Comet testi ile, gen mutasyonuna neden olma etkisi HPRT testi ile değerlendirilmiştir.

Elde edilen CBMN testi verileri sonucunda, SLS'nin %6 konsantrasyonundan yüksek dozlarının ve SLES 70'in %0,10 konsantrasyonundan yüksek dozlarının *in vitro* koşullarda, sağlıklı insan lenfosit hücreleri üzerinde toksik etkiler oluşturduğu görülmüştür. SLS'nin %6 konsantrasyonunun 24 saatte MN oluşumunu artırarak orta düzeyde klastojenik bir aktiviteye sahip olduğu görülürken, 48 saatte toksik etki yaptığı görülmüştür. Ayrıca 24 saatte hücre bölünmesini yüksek düzeyde azaltmıştır. SLS'nin %4 ve %2 konsantrasyonlarının 24 saatte hafif klastojenik olduğu ve orta düzeyde hücre bölünmesini azalttığı görülmüşken, 48 saatte %4 konsantrasyonunun orta düzeyde klastojenik olduğu ve hücre bölünmesini yüksek düzeyde azalttığı görülmüştür. SLS'nin %1 konsantrasyonunun 24 saatte klastojenik etkisi görülmezken, 48 saatte hafif klastojenik etkisi görülmüştür. Ayrıca SLS'nin %1 konsantrasyonunun 24 saatte hücre bölünmesine anlamlı bir etkisi görülmezken, 48 saatte hücre bölünmesini hafif düzeyde azalttığı görülmüştür. SLES 70'in %0,10 konsantrasyonunun 24 ve 48 saate orta düzeyde klastojenik etki gösterdiği ve hücre bölünmesini yüksek düzeyde azalttığı görülmüştür. SLES 70'in %0,08, %0,06 ve %0,04 konsantrasyonlarının 24 saatte hafif bir klastojenik etkisi olduğu görülürken, 48 saatte %0,08 konsantrasyonunun orta düzeyde klastojenik

etkisi görülmüştür. SLES 70'in %0,08 konsantrasyonunun 24 saatte hücre bölünmesini orta düzeyde azalttığı, 48 saatte yüksek düzeyde azalttığı görülmüştür. SLES 70'in %0,06 konsantrasyonunun 24 saatte hücre bölünmesini hafif düzeyde azalttığı, 48 saatte ise orta düzeyde azalttığı görülmüştür. SLES 70'in %0,04 konsantrasyonunun 24 saatte hücre bölünmesine anlamlı bir etkisi olmazken, 48 saatte hafif düzeyde azalttığı görülmüştür. Bu veriler sayesinde, SLS'nin dozları yükselirken MN sayısını artırarak klastojenik etkiye neden olduğu gözlenmiştir. Dozlar yükseldiği zaman, dozlar arasındaki MN artışının 1 ile 3 arasında değiştiği gözlenmiştir. Aynı dozların 48 saatlik maruziyetteki MN sayılarının, 24 saatlik maruziyetteki MN sayılarına göre 1 ile 3 arasında bir artış gösterdiği gözlenmiştir. Ayrıca dozlar yükseldiğinde CPI değerini düşürerek hücre bölünmesini azaltmıştır. Dozlar yükseldiği zaman, dozlar arasındaki CPI değerinin azalmasının 0,02 ile 0,04 arasında değiştiği gözlenmiştir. Aynı dozların 48 saatlik maruziyetteki CPI değerlerinin, 24 saatlik maruziyetteki CPI değerlerine göre 0,02 ile 0,03 arasında azaldığı gözlenmiştir. Yine bu veriler sayesinde, SLES 70'in dozları yükselirken MN sayısını artırarak klastojenik etkiye neden olduğu gözlenmiştir. Dozlar yükseldiği zaman, dozlar arasındaki MN artışının 1 ile 3 arasında değiştiği gözlenmiştir. Aynı dozların 48 saatlik maruziyetteki MN sayılarının, 24 saatlik maruziyetteki MN sayılarına göre 1 ile 3 arasında bir artış gösterdiği gözlenmiştir. Ayrıca dozlar yükseldiğinde CPI değerini düşürerek hücre bölünmesini azaltmıştır. Dozlar yükseldiği zaman, dozlar arasındaki CPI değerinin azalmasının 0,02 ile 0,03 arasında değiştiği gözlenmiştir. Aynı dozların 48 saatlik maruziyetteki CPI değerlerinin, 24 saatlik maruziyetteki CPI değerlerine göre 0,02 ile 0,03 arasında azaldığı gözlenmiştir. SLS'nin %6 konsantrasyonu ile SLES 70'in %0,10 konsantrasyonu, SLS'nin %4 konsantrasyonu ile SLES 70'in %0,08 konsantrasyonu, SLS'nin %2 konsantrasyonu ile SLES 70'in %0,06 konsantrasyonu ve SLS'nin %1 konsantrasyonu ile SLES 70'in %0,04 konsantrasyonu birbirlerine yakın MN ve CPI değerleri göstermiştir.

Elde edilen Comet testi verileri sonucunda, SLS'nin %6 ve SLES 70'in %0,10 konsantrasyonlarının kuyruk uzunluğu, kuyruk yoğunluğu ve kuyruk momenti değerlerini kontrol değerlerine göre yüksek düzeyde arttırarak DNA'da iplik kırılması tipinde genetik hasar oluşturabildikleri görülmüştür. SLS'nin %4 ve %2 konsantrasyonları ile SLES 70'in %0,08 ve %0,06 konsantrasyonlarının kuyruk uzunluğu, kuyruk yoğunluğu ve kuyruk momenti değerlerini kontrol değerlerine göre orta düzeyde arttırarak DNA'da iplik kırılması tipinde genetik hasar oluşturabildikleri

görülmüştür. SLS'nin %1 ve SLES 70'in %0,04 konsantrasyonlarının kuyruk uzunluğu, kuyruk yoğunluğu ve kuyruk momenti değerleri kontrol değerlerine göre anlamlılık göstermemiştir. Bu veriler sayesinde SLS ve SLES 70'in dozları yükseldiği zaman kuyruk uzunluğu, kuyruk yoğunluğu ve kuyruk momenti değerlerini artırarak DNA'da iplik kırılmasına neden olduğu gözlenmiştir. SLS'nin dozları yükseldiği zaman, dozlar arasında ortalama kuyruk uzunluğunun 3 ila 10, ortalama kuyruk yoğunluğunun 1 ila 10, ortalama kuyruk momentinin 1 ila 3 arasında arttığı gözlenmiştir. SLES 70'in dozları yükseldiği zaman, dozlar arasında ortalama kuyruk uzunluğunun 3 ila 8, ortalama kuyruk yoğunluğunun 1 ila 3, ortalama kuyruk momentinin 1 ila 2 arasında arttığı gözlenmiştir. SLS'nin %6 konsantrasyonu ile SLES 70'in %0,10 konsantrasyonu, SLS'nin %4 konsantrasyonu ile SLES 70'in %0,08 konsantrasyonu, SLS'nin %2 konsantrasyonu ile SLES 70'in %0,06 konsantrasyonu ve SLS'nin %1 konsantrasyonu ile SLES 70'in %0,04 konsantrasyonu birbirlerine yakın kuyruk uzunluğu, kuyruk yoğunluğu ve kuyruk momenti değerleri göstermiştir.

Elde edilen HPRT testi verileri sonucunda, SLS'nin %6 ve %4 konsantrasyonları ile SLES 70'in %0,10 ve %0,08 konsantrasyonları orta düzeyde gen mutasyonuna neden olurken, SLS'nin %2 konsantrasyonu ile SLES 70'in %0,06 konsantrasyonu hafif düzeyde gen mutasyonuna neden olmuştur. SLS'nin %1 konsantrasyonu ile SLES 70'in %0,04 konsantrasyonu anlamlı düzeyde gen mutasyonuna neden olmamıştır. Bu veriler sayesinde SLS ve SLES 70'in dozları yükselirken varyans frekans değerini artırarak gen mutasyonuna neden olduğu gözlenmiştir. SLS'nin dozları yükseldiği zaman, dozlar arasındaki varyans frekans değerlerinin 0,07 ila 0,12 arasında arttığı gözlenmiştir. SLES 70'in dozları yükseldiği zaman, dozlar arasındaki varyans frekans değerlerinin 0,06 ila 0,13 arasında arttığı gözlenmiştir. SLS'nin %6 konsantrasyonu ile SLES 70'in %0,10 konsantrasyonu, SLS'nin %4 konsantrasyonu ile SLES 70'in %0,08 konsantrasyonu, SLS'nin %2 konsantrasyonu ile SLES 70'in %0,06 konsantrasyonu ve SLS'nin %1 konsantrasyonu ile SLES 70'in %0,04 konsantrasyonu birbirine yakın varyans frekans değeri göstermiştir.

Ayrıca yapılan literatür araştırmalarında SLES ve SLS'nin aynı konsantrasyonlarında, SLES'nin SLS'ye göre daha az zararlı olduğu bilinmektedir. Ama bu çalışmada SLES'nin SLS'ye göre daha düşük konsantrasyonları, SLS ile benzer özellik göstermiştir. Bu da kullanılan SLES 70'in etoksilasyon işlemi sırasında kanserojen madde olan 1,4-dioksan ile kontamine olmuş ihtimalini düşündürmüştür.

Tez çalışmasında uygulanmış olan testler ile çeşitli ürünlerde yüzey aktif maddesi olarak kullanılan SLS ve SLES'nin sağlıklı insan hücreleri üzerinde, klastojenik etkiyle kromozomal hasarlar yaratabileceği, DNA iplik kırılmalarıyla çeşitli mutajenik etkiler oluşturabileceği ve gen mutasyonu oluşturarak genotoksik bir potansiyel taşıyabileceği görülmüştür.

Bu çalışmadan elde edilen veriler sayesinde, günlük hayatta sıkça kullandığımız ürünlerde bulunan SLS ve SLES'nin insan genomu üzerinde meydana getirebileceği genotoksik riskler konusunda bilinçlenme sağlanmış olacaktır. Zaten son yıllarda SLS ve SLES içermeyen kozmetik ürünlerin sayısı hızla artmaktadır.

Tovell, Howes ve Newsome (1975, s. 17-29) tarafından balıklar üzerinde yapılan çalışmada, SLS'nin karaciğer tarafından emilip metabolize edildikten sonra oluşan metabolitlerin dolaşıma geri döndüğü veya safra kesesine salgılandığı gözlenmiştir.

Blondeel, Oleffe ve Achten (1978, s. 270-276) tarafından yapılan çalışmada, SLS'nin çok sayıda alerjik reaksiyona sebep olduğu görülmüştür.

SLS ve SLES içeren ürünler, bu maddelerin dışında daha birçok kimyasal içermektedir. Bu yüzden SLS ve SLES'nin bu kimyasallarla olan etkilerine de bakılması, bunların vücutta nasıl metabolize olduğu ve gösterebilecekleri alerjik reaksiyonların iyice anlaşılması gerekir.

Bu çalışma ile elde edilen sonuçların daha ileri çalışmalarla desteklenmesi ile yetersiz olan bilimsel verilerin artırılması temenni edilmektedir.

## KAYNAKÇA

- Albertini, R.J. (2001). HPRT mutations in humans: biomarkers for mechanistic studies. *Mutation Research/Reviews in Mutation Research*, 489 (1), 1-16.
- Albertini, R.J., Anderson, D., Douglas, GR., Hagmar, L., Hemminki, K., Merlo, F., Natarajan, AT., Norppa, H., Shuker, DE., Tice, R., Waters, MD., Aitio, A. (2000). IPCS guidelines for the monitoring of genotoxic effects of carcinogens in humans. *Mutation Research/Reviews in Mutation Research*, 463 (2), 111-172.
- Azqueta, A., Collins, AR. (2013). The essential comet assay: a comprehensive guide to measuring DNA damage and repair. *Archives of Toxicology*, 87 (6), 949–968.
- Banáth, JP., Kim, A., Olive, PL. (2001). Overnight Lysis Improves the Efficiency of Detection of DNA Damage in the Alkaline Comet Assay. *Radiation Research*, 155 (4), 564–571.
- Bastian, ER. (2017). Surface Tension. *Microfluidics: Modelling, Mechanics and Mathematics* (421-444). Netherlands: Elsevier.
- Bauch, T., Böcker, W., Mallek, U., Müller, WU., Streffer, C. (1999). Optimization and Standardization of the “Comet Assay” for Analyzing the Repair of DNA Damage in Cells. *Strahlentherapie und Onkologie*, 175, 333-340.
- Beringer, J., Kurz, J. (2011). Hospital laundries and their role in medical textiles. VT. Bartels, *Handbook of Medical Textiles* (360-386). Sawston: Woodhead Publishing.
- Blondeel, A., Oleffe, J., Achten, G. (1978). Contact allergy in 330 dermatological patients. *Contact Dermatitis*, 4 (5), 270-276.
- Bolognesi, C., Fenech, M. (2013). Micronucleus assay in humancells: lymphocytes and buccal cells. *Methods in Molecular Biology*, 1044, 191-207.
- Carter, SB. (1967). Effects of Cytochalasins on Mammalian Cells. *Nature*, 213, 261-264.
- Caskey, CT., Kruh, GD. (1979). The HPRT locus. *Cell*, 16 (1), 1–9.
- Charbonnier, V., Morrison, BM., Paye, M., Maibach, HI. (2001). Subclinical, non-erythematous irritation with an open assay model (washing): sodium lauryl sulfate (SLS) versus sodium laureth sulfate (SLES). *Food and Chemical Toxicology*, 39 (3), 279-286.
- Chen, T., Harrington-Brock, K., Moore, MM. (2002). Mutant frequency and mutational spectra in the Tk and Hprt genes of N-ethyl-N-nitrosourea-treated mouse lymphoma cells. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 39 (4), 296–305.

- Ciuchta, HP., Dodd, KT. (1978). The determination of the irritancy potential of surfactants using various methods of assessment. *Drug and Chemical Toxicology*, 1 (3), 305-324.
- Cosmetic Ingredient Review (CIR). (2005). Annual Review of Cosmetic Ingredient Safety Assessments—2002/2003. *International Journal of Toxicology*, 24 (1).
- Cosmetic Ingredient Review (CIR). (2010). Final Report of the Amended Safety Assessment of Sodium Laureth Sulfate and Related Salts of Sulfated Ethoxylated Alcohols. *International Journal of Toxicology*, 29 (4).
- Fenech, M. (2000). The in vitro micronucleus technique. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 455 (1-2), 81-95.
- Fenech, M. (2002). Biomarkers of genetic damage for cancer epidemiology. *Toxicology*, 181-182, 411-416.
- Fenech, M. (2002). Chromosomal biomarkers of genomic instability relevant to cancer. *Drug Discovery Today*, 7 (22), 1128-1137.
- Fenech, M. (2006). Cytokinesis-block micronucleus assay evolves into a “cytome” assay of chromosomal instability, mitotic dysfunction and cell death. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 600 (1-2), 58-66.
- Fenech, M. (2007). Cytokinesis-block micronucleus cytome assay. *Nature Protocols*, 2, 1084–1104.
- Fenech, M., Morley, AA. (1985). Measurement of micronuclei in lymphocytes. *Mutation Research/Environmental Mutagenesis and Related Subjects*, 147 (1-2), 29-36.
- Fenech, M., Morley, AA. (1985). Solutions to the kinetic problem in the micronucleus assay. *Cytobios*, 43 (172-173), 233-246.
- Fenech, M., Morley, AA. (1986). Cytokinesis-block micronucleus method in human lymphocytes: effect of in vivo ageing and low dose X-irradiation. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 161 (2), 193-198.
- Fitzhugh, OG., Nelson, AA. (1948). Chronic oral toxicities of surface-active agents. *Journal of the American Pharmaceutical Association*, 37 (1), 29-32.
- Freitas, R., Silvestro, S., Coppola, F., Costa, S., Meucci, V., Battaglia, F., Intorre, L., Soares, AMVM., Pretti, C., Faggio, C. (2020). Toxic impacts induced by Sodium lauryl sulfate in *Mytilus galloprovincialis*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 242.

- Fu, R., Ceballos-Picot, I., Torres, R.J., Larovere, L.E., Yamada, Y., Nguyen, K.V., Hegde, M., Visser, J.E., Schretlen, D.J., Nyhan, W.L., Puig, J.G., O'Neill, P.J., Jinnah, H.A. (2014). Genotype–phenotype correlations in neurogenetics: Lesch-Nyhan disease as a model disorder. *Brain*, 137 (5), 1282–1303.
- Furth, E.E., Thilly, W.G., Penman, B.W., Liber, H.L., Rand, W.M. (1981). Quantitative assay for mutation in diploid human lymphoblasts using microtiter plates. *Analytical Biochemistry*, 110 (1), 1–8.
- Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü (HSGM). *Şampuanlardaki Sodyum Lauryl Sulfat (Sls) ve Kanser Raporu*.
- Harris, N. (2019). *Green Chemistry*. New Delhi: Scientific e-Resources.
- Heddle, J.A. (1973). A rapid in vivo test for chromosomal damage. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 18 (2), 187-190.
- Hope, J. (1977). Absence of chromosome damage in the bone marrow of rats fed detergent actives for 90 days. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 56 (1), 47-50.
- Johnson, G.E. (2012). Mammalian Cell HPRT Gene Mutation Assay: Test Methods. JM. Parry, E.M. Parry, *Genetic Toxicology Principles and Methods* (55-67). New York: Springer.
- Kirsch-Volders, M., Bonassi, S., Knasmueller, S., Holland, N., Bolognesi, C., Fenech, M.F. (2014). Commentary: Critical questions, misconceptions and a road map for improving the use of the lymphocyte cytokinesis-block micronucleus assay for in vivo biomonitoring of human exposure to genotoxic chemicals—A HUMN project perspective. *Mutation Research/Reviews in Mutation Research*, 759, 49-58.
- Kirsch-Volders, M., Sofuni, T., Aardema, M., Albertini, S., Eastmond, D., Fenech, M., Ishidate, M., Kirchner, S., Lorge, E., Morita, T., Norppa, H., Surrallés, J., Vanhauwaert, A., Wakata, A. (2003). Report from the in vitro micronucleus assay working group. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 540 (2), 153–163.
- Kosswig, K. (2000). Surfactants. *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*. Weinheim: Wiley-VCH.
- Lesch, M., Nyhan, W.L. (1964). A familial disorder of uric acid metabolism and central nervous system function. *The American Journal of Medicine*, 36 (4), 561-570.

- Liebert, MA. (1983). 1 Final Report on the Safety Assessment of Sodium Laureth Sulfate and Ammonium Laureth Sulfate. *International Journal of Toxicology*, 2 (5), 1–34.
- Liebert, MA. (1983). 7 Final Report on the Safety Assessment of Sodium Lauryl Sulfate and Ammonium Lauryl Sulfate. *International Journal of Toxicology*, 2 (7), 127–181.
- Litovitz, T., Manoguerra, A. (1992). Comparison of Pediatric Poisoning Hazards: An Analysis of 3.8 Million Exposure Incidents A Report from the American Association of Poison Control Centers. *Pediatrics*, 89 (6), 999-1006.
- Lu, Y., Liu, Y., Yang, C. (2017). Evaluating In Vitro DNA Damage Using Comet Assay. *Journal of Visualized Experiments*, 128.
- Miyake, M., Yamashita, Y. (2017). Molecular Structure and Phase Behavior of Surfactants. K. Sakamoto, R. Lochhead, H. Maibach, Y. Yamashita, *Cosmetic Science and Technology* (389-414). Netherlands: Elsevier.
- Moore, MM., Parker, L., Huston, J., Harrington-Brock, K., Dearfield, KL. (1991). Comparison of mutagenicity results for nine compounds evaluated at the hprt locus in the standard and suspension CHO assays. *Mutagenesis*, 6 (1), 77–85.
- Nakama, Y. (2017). Surfactants. K. Sakamoto, R. Lochhead, H. Maibach, Y. Yamashita, *Cosmetic Science and Technology* (231-244). Netherlands: Elsevier.
- Ng, CT., Li, JJ., Bay, BH., Yung, LY. (2010). Current Studies into the Genotoxic Effects of Nanomaterials. *Journal of Nucleic Acids*.
- Ostling, O., Johanson, KJ. (1984). Microelectrophoretic study of radiation-induced DNA damages in individual mammalian cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 123 (1), 291–298.
- Pauloin, T., Dutot, M., Liang, H., Chavinier, E., Warnet, JM., Rat, P. (2009). Corneal Protection With High-Molecular-Weight Hyaluronan Against In Vitro and In Vivo Sodium Lauryl Sulfate-Induced Toxic Effects. *The Journal of Cornea and External Disease*, 28 (9), 1032-1041.
- Piorr, R. (1987). Structure and Application of Surfactants. J. Falbe, *Surfactants in Consumer Products* (5-22). Berlin: Springer.
- Prottey, C., Ferguson, T. (1975). Factors which determine the skin irritation potential of soaps and detergents. *Journal of the Society of Cosmetic Chemists*, 26, 29-46.

- Prottey, C., Ferguson, TFM. (1976). The effect of surfactants upon rat peritoneal mast cells in vitro. *Food and Cosmetics Toxicology*, 14 (5), 425-430.
- Pulce, C., Descotes, J. (1996). Household products. J. Descotes, *Human Toxicology* (683-702). Netherlands: Elsevier.
- Rastogi, S.C. (1990). Headspace analysis of 1,4-dioxane in products containing polyethoxylated surfactants by GC-MS. *Chromatographia*, 29, 441–445.
- Rossoff, IS. (1975). *Handbook of veterinary drugs. A compendium for research and clinical use*. New York: Springer Publishing Co.
- Rubisz-Brzezińska, J., Musialowicz, D., Szczurek, Z., Ludyga, K. (1976). Effect of an anion-active detergent on the skin and the hair cycle in rats. *Przegląd dermatologiczny*, 63 (1), 25-31.
- Schmid, W. (1975). The micronucleus test. *Mutation Research/Environmental Mutagenesis and Related Subjects*, 31 (1), 9-15.
- Seegmiller, JE., Rosenbloom, FM., Kelley, WN. (1967). Enzyme Defect Associated with a Sex-Linked Human Neurological Disorder and Excessive Purine Synthesis. *Science*, 155 (3770), 1682-1684.
- Shah, AJ., Lakkad, BC., Rao, MV. (2016). Genotoxicity in lead treated human lymphocytes evaluated by micronucleus and comet assays. *Indian Journal of Experimental Biology*, 54 (8), 502–508.
- Singh, NP., McCoy, MT., Tice, RR., Schneider, EL. (1988). A simple technique for quantitation of low levels of DNA damage in individual cells. *Experimental Cell Research*, 175 (1), 184–191.
- Speit, G., Hartmann, A. (1995). The contribution of excision repair to the DNA effects seen in the alkaline single cell gel test (comet assay). *Mutagenesis*, 10 (6), 555–559.
- Stearns, DM. (2007). Evaluation of chromium (III) genotoxicity with cell culture and in vitro assays. JB. Vincent, *The Nutritional Biochemistry of Chromium (III)* (209-224). Netherlands: Elsevier.
- Thomas, P., Fenech, M. (2010). Cytokinesis-Block Micronucleus Cytome Assay in Lymphocytes. *Methods in Molecular Biology*, 682, 217-234.
- Tice, RR., Agurell, E., Anderson, D., Burlinson, B., Hartmann, A., Kobayashi, H., Miyamae, Y., Rojas, E., Ryu, JC., Sasaki, YF. (2000). Single cell gel/comet assay:

- guidelines for in vitro and in vivo genetic toxicology testing. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 35 (3), 206–221.
- Tonucci, D. (2005). New and Emerging Testing Technology for Efficacy and Safety Evaluation of Personal Care Delivery Systems. MR. Rosen, *Delivery System Handbook for Personal Care and Cosmetic Products* (911-929). New York: William Andrew.
- Torres, RJ., Puig, JG. (2007). Hypoxanthine-guanine phosphoribosyltransferase (HPRT) deficiency: Lesch-Nyhan syndrome. *Orphanet Journal of Rare Diseases*, 2.
- Tovell, PWA., Weaver, AC., Hope, J., Sprott, WE. (1974). The action of sodium lauryl sulfate on rat skin- an ultrastructural study. *British Journal of Dermatology*, 90 (5), 501-506.
- Tovell, PWA., Howes, D., Newsome, CS. (1975). Absorption, metabolism and excretion by goldfish of the anionic detergent sodium lauryl sulphate. *Toxicology*, 4 (1), 17-29.
- Törmä, H., Geijer, S., Gester, T., Alholm, K., Berne, B., Lindberg, M. (2006). Variations in the mRNA expression of inflammatory mediators, markers of differentiation and lipid-metabolizing enzymes caused by sodium lauryl sulphate in cultured human keratinocytes. *Toxicology in Vitro*, 20 (4), 472-479.
- Tusing, TW., Paynter, OE., Opdyke, DL., Snyder, FH. (1962). Toxicologic studies on sodium lauryl glyceryl ether sulfonate and sodium lauryl trioxyethylene sulfate. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 4, 402-409.
- Umegaki, K., Fenech, M. (2000). Cytokinesis-block micronucleus assay in WIL2-NS cells: a sensitive system to detect chromosomal damage induced by reactive oxygen species and activated human neutrophils. *Mutagenesis*, 15 (3), 261–269.
- Verbeek, H. (1987). Historical Review. J. Falbe, *Surfactants in Consumer Products* (1-4). Berlin: Springer.
- Walker, AIT., Brown, VKH., Ferrigan, LW., Pickering, RG., Williams, DA. (1967). Toxicity of sodium lauryl sulfate, sodium lauryl ethoxy sulfate, and corresponding surfactants derived from synthetic alcohols. *Food and Cosmetics Toxicology*, 5 (6), 763-769.
- World Health Organization (WHO). (2008). *World Report on Child Injury Prevention*. Geneva.

Yüzbaşıoğlu, D., Zengin, N., Ünal, F. (2014). Gıda Koruyucuları ve Genotoksisite Testleri. *Gıda*, 39 (3), 179 – 186.

Zair, ZM., Johnson, GE. (2014). The Applicable Use of the HPRT Gene Mutation Assay as a Practical Tool in Mutagenesis and DNA Repair Studies. LM. Sierra, I. Gaivão, *Genotoxicity and DNA Repair* (185-197). New York: Humana Press.

<https://www.ipcol.com/wp-content/uploads/xSURFACTANT-TYPES-500x426.jpg>.

[pagespeed.ic.JRwjaoZ9OT.jpg](https://www.ipcol.com/wp-content/uploads/xSURFACTANT-TYPES-500x426.jpg) (Son Erişim Tarihi 17.11.2020)

<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/3423265#section=Structures> (Son Erişim Tarihi 17.11.2020)

<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/23665884#section=2D-Structure> (Son Erişim Tarihi 17.11.2020)

## EK: ETİK KURUL RAPORU



T.C.  
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ  
Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurul Başkanlığı

**Sayı** :E-25403353-050.99-122146  
**Konu** :2020 - 119 Karar

15.12.2020

Sayın Prof.Dr.Berrin AYAZ TÜYLÜ  
Eskişehir Teknik Üniversitesi Fen Fakültesi  
Biyoloji Bölümü

Karar Tarihi: 24.11.2020  
Karar Sayısı: 28

Eskişehir Teknik Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü öğretim üyesi Prof.Dr.Berrin AYAZ TÜYLÜ'nün sorumluluğunda yürütülecek olan “**Sodium Lauryl Sulfate (SLS) ve Sodium Laureth Sulfate (SLES) 70'in Genotoksik Etkisinin in vitro Yöntemler ile Araştırılması**” başlıklı araştırmanın/çalışmanın gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel açıdan sakınca bulunmadığına karar verilmiştir.

Bilgilerinizi ve gereğini saygı ile rica ederim.

Prof. Dr. Varol ŞAHİNTÜRK  
Kurul Başkanı

Ek: e-imzalı Etik Kurul Kararı

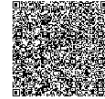
**Bu belge, güvenli elektronik imza ile imzalanmıştır.**

Belge Doğrulama Kodu : a4a65a2f-0e97-473e-8a7b-9a46d8f45cd9

Belge Doğrulama Adresi : <https://www.turkiye.gov.tr/esogu-ebys>

Adres : Meşelik Kampüsü 26040 Odunpazarı  
Telefon : 0222 2393750 Faks: 0222 2291418  
İnternet Adresi : [www.ogu.edu.tr](http://www.ogu.edu.tr)  
KEP adresi : [esk.osmangaziunirek@hs01.kep.tr](mailto:esk.osmangaziunirek@hs01.kep.tr)

Bilgi için : Aysun SERTTAŞ  
Telefon : 0222 2392979-4690  
E-posta : [aserttas@ogu.edu.tr](mailto:aserttas@ogu.edu.tr)



## ÖZGEÇMİŞ

ORCID NO: 0000-0002-0273-0328

**Adı- Soyadı:** Burcu Ümmihan BALCI

**Yabancı Dil:** İngilizce

**Doğum yeri ve Yılı:** İzmir / 1994

### **Eğitim:**

- 2016, Atatürk Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi,  
Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü