

GİRESUN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

ALBİNO FARELERDE PARABEN TARAFINDAN TEŞVİK EDİLEN
TOKSİSİTEYE KARŞI ISIRGAN OTU ÖZÜTÜNÜN KORUYUCU
ROLÜNÜN ARAŞTIRILMASI

BARAN SEVEN

AĞUSTOS
2015

ÖZET

ALBİNO FARELERDE PARABEN TARAFINDAN TEŞVİK EDİLEN TOKSİSİTEYE KARŞI ISIRGAN OTU ÖZÜTÜNÜN KORUYUCU ROLÜNÜN ARAŞTIRILMASI

Seven, BARAN

Giresun Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi

Danışman: Doç. Dr. Kültiğın ÇAVUŞOĞLU

Ortak Danışman: Prof. Dr. Kürşad YAPAR

Ağustos 2015, 27 Sayfa

Bu çalışmada gıda, ilaç ve kozmetik alanlarında sıkça kullanılan kimyasal maddelerden biri olan Paraben'in Swiss albino farelerde muhtemel fizyolojik, genotoksik ve biyokimyasal etkileri ile bu etkilere karşı ısırgan otu özütünün koruyucu rolü araştırılmıştır. Fizyolojik etkiler; canlı ağırlık ve karaciğer-böbrek organ ağırlıklarının ölçümü ile, genotoksik etkiler; eritrosit hücrelerindeki mikronukleus (MN) sıklığının ve kemik iliği hücrelerinde kromozomal hasar oluşumunun tespitiyle ve biyokimyasal etkiler ise; serum Aspartat Aminotransferaz (AST), Alanin Aminotransferaz (ALT), Kan Üre Nitrojen (BUN), Kreatinin ile karaciğer ve böbrek MDA (Malondialdehit) – GSH (Glutatyon) düzeylerinin ölçülmesiyle değerlendirilmiştir. Fareler her grupta altı (6) hayvan olacak şekilde toplam altı (6) gruba ayrılmış, kontrol grubundaki fareler çeşme suyu, uygulama grubundaki fareler ise ısırgan otu özütünün 125 mg/kg c.a ve 250 mg/kg c.a dozlarıyla ve Paraben'in 150 mg/kg c.a dozuyla beslenmişlerdir. Paraben uygulaması canlı ağırlıklarda ve organ ağırlıklarında istatistiksel açıdan önemli bir azalmaya neden olurken, MN ve kromozomal anormallik sıklığında ise önemli bir artışa neden olmuştur. Ayrıca Paraben uygulaması serum AST, ALT, BUN, Kreatinin ve

karaciğer-böbrek MDA düzeylerinde önemli bir artışa, karaciğer-böbrek GSH düzeylerinde ise önemli bir azalışa neden olduğu belirlenmiştir. Isırgan otu özütü uygulaması ise Paraben'in söz konusu olumsuz etkilerini iyileştirerek, tüm parametrelerde doza bağlı bir iyileşme göstermiştir. Sonuç olarak ise ısırgan otu özütü, Paraben ya da diğer kimyasallara maruz kalındığında bunların olumsuz etkilerini tersine çevirmek amacıyla koruyucu bir ürün olarak değerlendirilebileceği tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Paraben, Isırgan Otu Özütü, Genotoksisite, Kromozom Anormallikleri, MN, Biyokimya, Fizyoloji.

ABSTRACT

INVESTIGATION OF PROTECTIVE ROLE OF NETTLE EXTRACT AGAINST TOXIC EFFECTS ENCOURAGED BY PARABEN ON SWISS ALBINO MICE

SEVEN, Baran

Giresun University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Biology, Master Thesis

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Kültiğın ÇAVUŞOĞLU

Co-Supervisor: Prof. Dr. Kürşad YAPAR

August 2015, 27 Pages

This study researches into the potential physiologic, genotoxic and biochemical effects of Paraben, which is one of the most frequent chemical substance used in cosmetic and drug sectors, on Swiss Albino mice and the protective role of extract of nettle against these effects. The study analyzes the physiologic effects by measuring the live weight, liver and kidney weight, whilst determining the genotoxic effects by frequency of micronucleus (MN) on erythrocyte cells and determining the chromosomal damage on bone marrow cells and biochemical effects by measuring the levels of Aspartate Aminotransferase (AST), Alanine Aminotransferase (ALT), Blood Urea Nitrogen (BUN), finally measuring the levels of lung and kidney Malondialdehyde (MDA) - Glutathione (GSH) and Creatinine. Mice used in this research were divided into six groups in total comprising of 6 mice in each group, while the mice in control group were fed with tap water, the mice in treatment group were fed with 120 mg/kg b.w. and 250 mg/kg b.w. doses of extract of nettle, and 150 mg/kg b.w. dose of Paraben. While application of the Paraben led to a significant statistical decrease in live and organ weights, caused to a significant increase in MN and chromosomal abnormalities frequency. In addition, application of Paraben led to

an important increase in serum AST, ALT, BUN, Creatinine and MDA levelsof lung-kidney and an significant decrease in GSH levels of lung-kidney. Application of extract of nettle healed the potential negative effects of Paraben, and revealed an important recovery in all parameters depending on doses. As a result, it was determined that extract of nettle can be evaluated as a protective product to reverse the of Paraben and other chemicals when it exposed to them.

Keywords: Paraben, Nettle Extract, Genotoxicity, Chromosomal Abnormalities, MN, Biochemistry, Physiology.

TEŞEKKÜR

Öncelikle alıőmalarım esnasında yardımlarını ve desteklerini benden esirgemeyen değerli danışman hocalarım Do. Dr. Kultięin AVUŐOęLU ve Prof. Dr. Kırőad YAPAR'a, tez çalıőmamın her aőamasında bilimsel destek sağlayan değerli hocam Doç. Dr. Emine YALÇIN'a, çalıőmalarım sırasında desteklerini esirgemeyen değerli arkadaőım Öęr. Gör. Ali ACAR'a, ayrıca hayatımın her aőamasında beni yüreklendiren, öğrenim hayatım boyunca maddi ve manevi desteklerini benden esirgemeyen aileme teőekkürü bir borç bilirim.

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	I
ABSTRACT.....	III
TEŞEKKÜR.....	V
İÇİNDEKİLER.....	VI
TABLolar DİZİNİ.....	2
KISALTMALAR DİZİNİ.....	2
1. GİRİŞ.....	1
2. MATERYAL VE METOT.....	3
2.1. Ürün ve Kimyasallar.....	3
2.2. Canlı Ağırlık ve Organ Ağırlıklarının Tespiti.....	3
2.3. Eritrosit Mikronukleus (MN) Testi.....	3
2.4. Kromozom Analiz Yöntemi.....	4
2.5. Serum Analizi.....	4
2.6. Lipid Peroksidasyonu ve Glutasyon Aktivitesi.....	4
2.7. İstatistiksel Analiz.....	5
3. ARAŞTIRMA BULGULARI.....	6
4. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	13
KAYNAKLAR.....	16
ÖZGEÇMİŞ.....	19

TABLÖLAR DİZİNİ

TABLO

3.1. Paraben'in canlı ağırlık (gr) üzerine etkileri.....	6
3.2 Paraben'in karaciğer organ ağırlığı (gr) üzerine etkileri.....	7
3.3. Paraben'in böbrek organ ağırlığı (gr) üzerine etkileri.....	8
3.4. Paraben'in eritrosit hücrelerinde teşvik ettiği mikronükleus (MN) sıklığı.....	9
3.5. Kemik iliği hücrelerinde Paraben tarafından teşvik edilen kromozomal hasarlar.....	10
3.6. Paraben'in bazı biyokimyasal parametreler üzerine etkisi.....	11
3.7. Paraben'in MDA ve GSH düzeylerine etkisi.....	12

KISALTMALAR

MN	Mikronukleus
AST	Aspartat Aminotransferaz
ALT	Alanin Aminotransferaz
BUN	Kan Üre Nitrojen
MDA	Malondialdehit
GSH	Glutatyon

1. GİRİŞ

Kozmetik ürünler, insan vücudunun tırnak, saç ve dudak gibi dış kısımları ile dış ve ağız mukozasına uygulanmak üzere hazırlanmış kimyasal maddelerdir. Temel amaçları söz konusu kısımları temizlemek, koku vermek, görünümünü değiştirmek, korumak ve iyi bir durumda tutmaktır (1). Kozmetik ürünlerin kullanımına bağlı olarak özellikle ciltte bir miktar kimyasal madde kalmaktadır. Bu kalıntı ise insan sağlığı açısından istenmeyen etkilere yol açabilmektedir (2). İlaç ve kozmetik sektöründe en sık kullanılan kimyasal maddelerden biri de parabenlerdir. (3).

Parabenler; ilaç, yiyecek ve kozmetik sektörlerinde sıklıkla kullanılan koruyucu maddelerdir. Metil, etil, propil ve butil esteri şeklinde 4 paraben türü bulunmaktadır. Özellikle propil ve metil paraben esterleri, bakteriyel ve fungal kontaminasyonu önlemek amacıyla kozmetik ürünlerde ve topikal ilaçlarda sıklıkla kullanılan başlıca koruyuculardır. Parenteral olarak kullanılan pek çok ilaçta da koruyucu madde olarak yine paraben bulunmaktadır. Bu ilaçlar arasında antibiyotikler, kortikosteroidler, lokal anestezipler, vitaminler, anti-hipertansifler, diüretikler, insülin, heparin ve bazı kemoterapitik ajanlar sayılabilir. Ayrıca gıda ve bazı temizlik maddeleri de paraben içerebilirler. Parabenler kokusuz, renksiz ve uçucu kimyasallardır. Geniş antimikrobiyal etki spektrumuna sahip olmaları, daha az iritasyona yol açmaları, daha az oranda duyarlanmaya neden olmaları ve kozmetiklerdeki geniş pH aralığı içinde stabil kalabilmeleri gibi nedenlerden dolayı ideal bir koruyucu olarak tanımlanmışlardır (4-6). Parabenlere karşı duyarlı kişilerde; deride kızarıklık, şişlik, kaşıntı ve ağrı bulguları rapor edilmiştir. Yapılan çalışmalarda, içerisinde parabenlerin kullanıldığı ürünleri tüketen ve göğüs kanserine yakalanan insanların kanserli dokularında parabene rastlanılmıştır. Söz konusu birikimin, parfüm, deodorant, krem, güneş yağları ve çeşitli makyaj ürünlerinin kullanımını sonucunda ciltten absorbe edilmek suretiyle gerçekleştiği anlaşılmıştır. Dokulara yerleşen parabenlerin östrojen hormon seviyesinde artışa neden olarak hormon homeostozisini bozmak suretiyle tümör oluşturduğu değerlendirilmiştir (7).

Son yıllarda kimyasalların sebep olduğu toksisiteyi azaltmada biyolojik kökenli ürünler kullanılmaktadır. Örneğin; oksidatif strese maruz kalan ratlarda meyve fenolik bileşiklerinin koruyucu rolü (8), Sisplatin'in sıçan böbrek ve karaciğer dokularında sebep olduğu toksisiteyi azaltmada nar suyu özütünün koruyucu rolü

(9), Kadmiyum toksisitesini azaltmada ise *Dermatocarpon intestiniforme* (Körber) Hasse ekstraktı kullanılmıştır (10). Bu çalışmada ise Paraben'in sebep olduğu toksisiteyi azaltmak amacıyla ısırgan otu özütü kullanılmıştır.

Isırgan otu (*Urtica dioica* L.); Urticaceae familyasına ait ılıman bölgelerde yetişen yabani bir ottur. Kök ve tohumdan çoğalan, yavaş yayılan ve yıl boyunca sürekli bulunan bir bitkidir. Yaprakları ve gövdesi yakıcı tüylerle kaplanmıştır. Yakıcı tüylerine dokunulduğunda deride asetilkolin, histamin, 5-hidroksitriptamin ve serotonin salınımına sebep olarak yakıcı etki göstermektedir (11). Isırgan otu yüzyıllardan beri tedavi amacıyla kullanılan şifalı otlardan biridir. Yaprak ve tohumları ekzama, apse, yara, basur, karaciğer yetmezliği, romatizmal ağrılar, iç hastalıkları, diyabet, deri enfeksiyonları, burun kanamaları ve kanser gibi pek çok hastalığın tedavisinde yaygın şekilde kullanılmakta, içeriğinde ise potasyum tuzları, histamin, asetikolin, C vitamini ve formik asit bulunmaktadır. Isırgan otunun kendisi, tohumu ve kökleri yenerek ya da bitki çayları şeklinde içilmek suretiyle kullanılabilir. (12-14).

Bu çalışmanın amacı ilaç ve kozmetik ürünlerin bileşiminde yaygın olarak kullanılan Paraben'in muhtemel fizyolojik ve genotoksik etkilerini Swiss albino farelerde gözler önüne sermek, bu etkilere karşı ise ısırgan otu özütünün koruyucu rolünü test etmektir.

2. MATERYAL VE METOT

Bu çalışmada, Giresun Üniversitesi Deneysel Hayvanları Araştırma Laboratuvarında mevcut 36 adet Swiss albino fare kullanılmıştır. Hayvanlar bir (1) kontrol ve beş (5) uygulama olmak üzere toplam altı (6) gruba ayrılmış, 12 saat ışık 12 saat karanlık döngüde, oda sıcaklığında ve %50 nem ortamında bakımları sağlanmıştır. On (10) haftalık uygulama periyodu süresince, kontrol grubundaki fareler çeşme suyu, uygulama grubundaki fareler ise ısırgan otu özütünün 125 mg/kg c.a ve 250 mg/kg c.a dozlarıyla ve Paraben'in 150 mg/kg c.a dozuyla beslenmişlerdir. Uygulama periyodundan bir hafta önce hayvanlar standart pellet yem ve çeşme suyu ile beslenerek ortama adaptasyonları sağlanmıştır.

2.1. Ürün ve Kimyasallar

Paraben Bend Mühendislik ve Teknik Cihazlar'dan, Kolşisin Solüsyonu Biostar Kimya Medikal Laboratuvar Ürünleri Ltd. (Ankara)'den, Fast Green ve Grünwald Giemsa boyaları ise Interlab A.Ş (İstanbul)'den, ısırgan otu özütü ise Vega Naturel Ltd. Şti'den temin edilmiştir.

2.2. Canlı Ağırlık ve Organ Ağırlıklarının Tespiti

Albino fareler eter anestezisi altında bayıldıktan sonra uygulama periyodu öncesi ve sonrasında hassas terazi yardımıyla canlı ağırlıkları, sakrifiye edildikten sonra ise yine hassas terazi yardımıyla organ ağırlıkları tespit edilmiştir.

2.3. Eritrosit Mikronukleus (MN) Testi

Fare Eritrosit Mikronukleus (MN) testi, kemik iliği polikromatik eritrositlerinde uygulanan geleneksel MN testinin modifiye bir şeklidir. Bu testte, farelerin kuyruklarından elde edilen dolaşım kanındaki olgun normakromatik eritrositler sayılmaktadır. Fare eritrosit MN testi Te-Hsiu ve ark. (15) bildirdiği yöntemle yapılmıştır. Kısaca, fareler eter anestezisi altında bayılmış ve farelerin kuyruk venlerinden küçük bir iğne yardımıyla kan örnekleri alınmıştır. Her bir fareden toplanan periferik kanın yaklaşık 5 µL'si % 3 EDTA çözeltisi ile karıştırılmış ve temiz lam üzerine yayılmıştır. Eritrositler 2 dakika süreyle %70'lik etanol içinde fiske edilmiş ve hazırlanan slaytlar oda sıcaklığında bir gece kurumaya bırakılmıştır. Daha sonra, slaytlar % 5'lik May-Grünwald Giemsa ile 15 dakika

süresince boyanarak, süre sonunda saf su ile yıkanmıştır. Genellikle her bir grup için üç ya da dört slayt hazırlanmış ve her bir slayttaki MN sıklığı iki farklı gözlemci tarafından art arda iki defa sayılmıştır. Hazırlanan slaytlardan toplam 1000 normakromatik eritrosit araştırma mikroskobu (Nikon Eclipse E100) altında X100 büyütmede sayılarak MN'li hücrelerin sayısı tespit edilmiş ve X500 büyütme de fotoğraflandırılmıştır.

2.4. Kromozom Analiz Yöntemi

Farelere sakrifiye edilmeden 2 saat önce intraperitoneal (ip) yolla 0.025% kolşisin verilmiş ve süre sonunda eter anestezi altında sakrifiye edilmişlerdir. Daha sonra sırasıyla femurdan kemik iliği aspire edilmiş, serum fizyolojik ile yıkanmış, 0.075 M KCl ile muamele edilmiş, Carnoy's ile fikse edilerek, % 5'lik Grünwald-Giemsa boyası ile boyanmıştır. Son olarak ise kromozomal hasarlar araştırma mikroskobu (Nikon Eclipse E100) altında X100 büyütmede belirlenmiş, X500 büyütmede ise fotoğraflandırılarak Savage (16)'nin bildirdiği kriterlere göre sınıflandırılmıştır.

2.5. Serum Analizi

Serum izolasyonu için, tam kan örnekleri hafif eter anestezi altında farelerden intrakardiyak olarak alınmış, Vacutainer tüplere (BD VacutainerSystems, San Jose, CA, ABD) alınan kan örnekleri +4 °C'de 10 dakika 1200 g santrifüje edilmiş ve analiz süresine kadar -20 °C'de saklanmıştır. AST (GOT sıvı reaktif, katalog numarası A559-150, TecoDiagnostics), ALT (GPT sıvı reaktif, katalog numarası A524-150, TecoDiagnostics) enzim aktiviteleri ile BUN (katalog numarası B549-150, TecoDiagnostics) ve kreatinin (katalog numarası C513-480, TecoDiagnostics) konsantrasyonları ticari olarak satılan kitler ile otoanalizör (Model 99M Chemistry Analyzer, Medispec, Germantown, MD, USA) yardımıyla ölçülmüştür.

2.6. Lipid Peroksidasyonu ve Glutasyon Aktivitesi

Hayvanlar eter anestezi altında kalp eksangunasyon yöntemiyle sakrifiye edilerek, her hayvanın karaciğer ve böbrek dokuları çıkartılarak yıkanmış, kurutulmuş ve biyokimyasal ölçümler için hazır hale getirilmiştir. Toplanan dokular soğuk 0.15 M KCl banyosu içinde homojenizatör (Ultraturrax tip T25-B, IKA LABORTECHNIK, Staufen, Almanya) ile 16.000 rpm de 3 dakika homojenize

edilmiş, homojenatlar 4 °C'de 5000 g de 1 saat santrifüj işlemine maruz bırakılmış ve süpernatantlar alınarak analiz edilinceye kadar -40 °C'de saklanmıştır. Doku MDA ve GSH düzeyleri Yoshiko ve ark. (17) ile Beutler (18) tarafından bildirilen kolorimetrik yöntem kullanılarak UV-spektrofotometre (UV mini-1240, Shimadzu, Kyoto, Japan) yardımıyla ölçülmüştür.

2.7. İstatistiksel Analiz

İstatistiksel verilerin analizi için SPSS for Windows V 22.0 (SPSS Inc, Chicago, IL, USA, 2013) paket programı kullanılmıştır. Gruplar arasında istatistiksel farklılıkların değerlendirilmesi One-way ANOVA ve Duncan testleri kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Veriler ortalama \pm SD değerleri olarak verilmiş ve P değeri 0.05'den küçük olduğunda istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

3. ARAŞTIRMA BULGULARI

Tablo 3.1. Paraben'in canlı ağırlık (gr) üzerine etkileri

Gruplar	Başlangıç Ağırlığı	Son Ağırlık	Ağırlık Artışı
Grup I	24.86±0.51 ^e	34.08±2.33 ^a	+9.22
Grup II	24.39±0.62 ^e	34.19±1.43 ^a	+9.80
Grup III	24.39±1.30 ^e	34.04±1.55 ^a	+9.65
Grup IV	24.15±0.95 ^e	26.63±1.35 ^d	+2.48
Grup V	24.47±1.13 ^e	28.34±1.49 ^c	+3.87
Grup VI	24.65±0.43 ^e	30.83±0.76 ^b	+6.18

* Grup I: Kontrol, Grup II: 125 mg/kg c.a ısırgan otu özütü, Grup III: 250 mg/kg c.a ısırgan otu özütü, Grup IV: 150 mg/kg c.a Paraben, Grup V: 150 mg/kg c.a Paraben + 125 mg/kg c.a ısırgan otu özütü, Grup VI: 150 mg/kg c.a Paraben + 250 mg/kg c.a ısırgan otu özütü. Veriler ortalama ± standart sapma (SD) olarak gösterildi (n = 6). Ortalamalar arasındaki istatistiksel önem "Duncan" testini takiben "one-way" ANOVA varyans analizi kullanılarak araştırıldı. Aynı sütün içerisinde farklı harfler ile belirtilen ortalamalar istatistiksel olarak önemlidir (P<0.05).

Paraben uygulamasının canlı ağırlık üzerine etkisi Tablo 3.1'de verilmiştir. Tablo'daki sonuçlar incelendiğinde, uygulama periyodunun sonunda en fazla ağırlık artışı kontrol grubu ile sadece ısırgan otu özütü uygulanan Grup II ve Grup III'de tespit edilmiştir. Söz konusu gruplarda sırasıyla 9,22 gr, 9,80 gr ve 9,65 gr'lık bir ağırlık artışı belirlenmiş, ayrıca gruplar arasındaki bu ağırlık farklarının istatistiksel açıdan önemli olmadığı da gözlenmiştir (P>0.05). En az ağırlık artışı ise sadece 150 mg/kg c.a dozunda Paraben uygulanan Grup IV'de gözlenmiştir. Söz konusu grupta 2.48 gr ağırlık artışı tespit edilmiştir. Paraben uygulaması ile birlikte ısırgan otu özütü ile beslemenin Grup V ve Grup VI'da ağırlık kazanımında tekrar bir artış neden olduğu, bu artışın uygulanan ısırgan otu özütünün dozuyla doğru orantılı

olduğu ve sadece paraben uygulanan gruba göre istatistiksel açıdan önemli olduğu belirlenmiştir ($P<0.05$).

Tablo 3.2 Paraben'in karaciğer organ ağırlığı (gr) üzerine etkileri

Gruplar	Organ Ağırlığı	Minimum Organ Ağırlığı	Maksimum Organ Ağırlığı
Grup I	1.65±0.05 ^a	1.58	1.72
Grup II	1.67±0.03 ^a	1.60	1.70
Grup III	1.66±0.06 ^a	1.58	1.75
Grup IV	1.10±0.06 ^d	1.02	1.19
Grup V	1.22±0.08 ^c	1.10	1.33
Grup VI	1.40±0.11 ^b	1.23	1.52

* Grup I: Kontrol, Grup II: 125 mg/kg c.a ısırgan otu özütü, Grup III: 250 mg/kg c.a ısırgan otu özütü, Grup IV: 150 mg/kg c.a Paraben, Grup V: 150 mg/kg c.a Paraben + 125 mg/kg c.a ısırgan otu özütü, Grup VI: 150 mg/kg c.a Paraben+ 250 mg/kg c.a ısırgan otu özütü. Veriler ortalama ± standart sapma (SD) olarak gösterildi (n = 6). Ortalamalar arasındaki istatistiksel önem "Duncan" testini takiben "one-way" ANOVA varyans analizi kullanılarak araştırıldı. Aynı sütün içerisinde farklı harfler ile belirtilen ortalamalar istatistiksel olarak önemlidir ($P<0.05$).

Paraben'in karaciğer organ ağırlığında meydana getirmiş olduğu değişiklikler Tablo 3.2'de verilmiştir. Karaciğer organ ağırlığındaki en fazla azalmanın sadece Paraben uygulanan grupta (Grup IV), en az ise kontrol ve ısırgan otu özütünün iki farklı dozu ile beslenen Grup II ve Grup III'de olduğu tespit edilmiştir. Bu gruplarda sırasıyla 1.10 gr, 1.58 gr, 1.60 gr ve 1.58 gr organ ağırlığı tespit edilmiştir. Ayrıca Grup IV'deki azalmanın diğer üç gruba göre istatistiksel açıdan önemli olduğunda belirlenmiştir ($P<0.05$). Paraben ile birlikte ısırgan otu özütünün iki farklı dozu ile besleme Grup V ve Grup VI'deki farelerin karaciğer organ ağırlıklarında doza bağlı olarak tekrar bir artışa sebep olmuştur. Söz konusu artışın ise sadece

Paraben uygulanan Grup IV’de göre istatistiksel açıdan önemli olduğu tespit edilmiştir (P<0.05).

Tablo 3.3. Paraben’in böbrek organ ağırlığı (gr) üzerine etkileri

Gruplar	Organ Ağırlığı	Minimum Organ Ağırlığı	Maksimum Organ Ağırlığı
Grup I	0.53±0.05 ^a	0.45	0.58
Grup II	0.50±0.08 ^a	0.40	0.58
Grup III	0.51±0.04 ^a	0.46	0.56
Grup IV	0.24±0.03 ^d	0.19	0.29
Grup V	0.31±0.02 ^c	0.29	0.34
Grup VI	0.39±0.04 ^b	0.33	0.44

* Grup I: Kontrol, Grup II: 125 mg/kg c.a ısırgan otu özütü, Grup III: 250 mg/kg c.a ısırgan otu özütü, Grup IV: 150 mg/kg c.a Paraben, Grup V: 150 mg/kg c.a Paraben + 125 mg/kg c.a ısırgan otu özütü, Grup VI: 150 mg/kg c.a Paraben+ 250 mg/kg c.a ısırgan otu özütü. Veriler ortalama ± standart sapma (SD) olarak gösterildi (n = 6). Ortalamalar arasındaki istatistiksel önem “Duncan” testini takiben “one-way” ANOVA varyans analizi kullanılarak araştırıldı. Aynı sütün içerisinde farklı harfler ile belirtilen ortalamalar istatistiksel olarak önemlidir (P<0.05).

Paraben’in böbrek organ ağırlığında meydana getirmiş olduğu değişiklikler Tablo 3.3’de verilmiştir. Böbrek ağırlığındaki en fazla azalmanın sadece Paraben uygulanan grupta (Grup IV), en az ise kontrol ve ısırgan otu özütünün iki farklı dozu ile beslenen Grup II ve Grup III’de olduğu tespit edilmiştir. Söz konusu gruplarda sırasıyla 0.24 gr, 0.53 gr, 0.50 gr ve 0.51 gr organ ağırlığı belirlenmiştir. Ayrıca Grup IV’deki azalmanın diğer üç gruba göre istatistiksel açıdan önemli olduğunda görülmüştür(P<0.05). Paraben ile birlikte ısırgan otu özütünün iki farklı dozu ile besleme Grup V ve Grup VI’deki farelerin böbrek organ ağırlıklarında doza bağlı olarak tekrar bir artışa sebep olmuştur. Söz konusu artışın ise sadece Paraben uygulanan Grup IV’de göre istatistiksel açıdan önemli olduğunda tespit edilmiştir (P<0.05).

Tablo 3.4. Paraben'in eritrosit hücrelerinde teşvik ettiği mikronükleus (MN) sıklığı

Gruplar	Sayılan Hücre Sayısı	Ortalama MN	Minimum MN	Maksimum MN
Grup I	1000	1.00±1.26 ^d	0	3
Grup II	1000	1.17±0.75 ^d	0	2
Grup III	1000	0.83±0.98 ^d	0	2
Grup IV	1000	46.17±8.52 ^a	34	58
Grup V	1000	38.83±3.97 ^b	33	45
Grup VI	1000	26.17±4.45 ^c	20	33

* Grup I: Kontrol, Grup II: 125 mg/kg c.a ısırgan otu özütü, Grup III: 250 mg/kg c.a ısırgan otu özütü, Grup IV: 150 mg/kg c.a Paraben, Grup V: 150 mg/kg c.a Paraben + 125 mg/kg c.a ısırgan otu özütü, Grup VI: 150 mg/kg c.a Paraben+ 250 mg/kg c.a ısırgan otu özütü. Veriler ortalama ± standart sapma (SD) olarak gösterildi (n = 6). Ortalamalar arasındaki istatistiksel önem “Duncan” testini takiben “one-way” ANOVA varyans analizi kullanılarak araştırıldı. Aynı sütün içerisinde farklı harfler ile belirtilen ortalamalar istatistiksel olarak önemlidir (P<0.05).

Paraben'in eritrosit hücrelerinde teşvik ettiği MN sıklığı Tablo 3.4'de verilmiştir. Elde edilen veriler incelendiğinde Paraben uygulamasının eritrosit hücrelerinde MN oluşumuna sebep olduğu belirlenmiştir. Sadece Paraben ile beslenen Grup IV'deki farelerin eritrosit hücrelerinde ortalama 46.17 oranında MN oluşumuna rastlanırken, en az MN oluşumu ise kontrol ve sadece ısırgan otu özütünün iki farklı dozu ile beslenen Grup II ve Grup III'deki farelerin eritrosit hücrelerinde tespit edilmiştir. Söz konusu gruplarda sırasıyla 1.00, 1.17, ve 0.83 oranında MN gözlenmiştir. Ayrıca Grup IV'de gözlenen MN oranının bu gruplara göre istatistiksel açıdan önemli olduğunda belirlenmiştir (P<0.05). Paraben ile birlikte ısırgan otu özütünün iki farklı dozu ile besleme Grup V ve Grup VI'deki farelerin eritrosit hücrelerindeki MN sayısında azalmaya sebep olmuş, söz konusu azalmanın ise uygulanan ısırgan otu özütünün dozuyla doğru orantılı olduğu tespit edilmiştir.

Tablo 3.5. Kemik iliği hücrelerinde Paraben tarafından teşvik edilen kromozomal hasarlar

Gruplar	Kromatit Kırığı	Fragment	Gap	Ring	Asentrik	Disentrik
Grup I	00.00±0.00 ^d	00.00±0.00 ^d	00.33±0.52 ^d	00.00±0.00 ^d	00.00±0.00 ^d	00.00±0.00 ^d
Grup II	00.00±0.00 ^d	00.00±0.41 ^d	00.17±0.41 ^d	00.00±0.00 ^d	00.00±0.00 ^d	00.00±0.00 ^d
Grup III	00.00±0.41 ^d	00.00±0.00 ^d	00.33±0.52 ^d	00.00±0.00 ^d	00.00±0.00 ^d	00.00±0.00 ^d
Grup IV	36.33±6.65 ^a	26.17±4.12 ^a	16.00±4.60 ^a	12.00±3.85 ^a	08,33±2.42 ^a	04.83±2.04 ^a
Grup V	26.17±5.15 ^b	21.17±3.97 ^b	12.00±2.90 ^b	07.00±2.00 ^b	04.33±1.86 ^b	02.83±0.98 ^b
Grup VI	20.50±4.76 ^c	14.17±3.19 ^c	07.33±1.75 ^c	05.17±2.04 ^b	02.50±3.33 ^c	01.33±0.51 ^c

* Grup I: Kontrol, Grup II: 125 mg/kg c.a ısırgan otu özütü, Grup III: 250 mg/kg c.a ısırgan otu özütü, Grup IV: 150 mg/kg c.a Paraben, Grup V: 150 mg/kg c.a Paraben + 125 mg/kg c.a ısırgan otu özütü, Grup VI: 150 mg/kg c.a Paraben + 250 mg/kg c.a ısırgan otu özütü. Veriler ortalama ± standart sapma (SD) olarak gösterildi (n = 6). Ortalamalar arasındaki istatistiksel önem “Duncan” testini takiben “one-way” ANOVA varyans analizi kullanılarak araştırıldı. Aynı sütun içerisinde farklı harfler ile belirtilen ortalamalar istatistiksel olarak önemlidir (P<0.05). Kromozomal hasarlar için her hayvan başına 100 hücre, her grupta 6 hayvan bulunduğu için toplamda 600 hücre sayıldı. Ortalamalar arasındaki istatistiksel önem “Duncan” testini takiben “one-way” ANOVA varyans analizi kullanılarak araştırıldı. Aynı sütun içerisinde farklı harfler ile belirtilen ortalamalar istatistiksel olarak önemlidir (P<0.05).

Paraben’in kemik iliği hücrelerinde teşvik ettiği kromozomal hasarlar Tablo 3.5’de gösterilmiştir. Tablodaki veriler incelendiğinde sırasıyla; kromatit kırığı > fragment > gap > ring > asentrik > disentrik şeklinde kromozomal hasarlar tespit edilmiştir. En fazla kromozomal hasar sadece Paraben uygulanan grupta (Grup IV), en az ise kontrol ve ısırgan otu özütünün iki farklı dozu beslenen Grup II ve Grup III’de belirlenmiştir Grup IV’de belirlenen kromozomal hasar sayılarının diğer gruplara göre istatistiksel açıda önemli olduğunda belirlenmiştir (P<0.05). Paraben ile birlikte ısırgan otu özütünün iki farklı dozu ile besleme Grup V ve Grup VI’de kromozomal hasar sayılarının azalmasına neden olmuştur. Diğer bir ifadeyle

kromozomal hasar sayıları uygulanan ısırgan otu özütünün dozundaki artışla azalmıştır.

Tablo 3.6. Paraben'in bazı biyokimyasal parametreler üzerine etkisi

Gruplar	AST (U/L)	ALT (U/L)	BUN (mg/L)	Kreatinin (mg/L)
Grup I	114.17±2.97 ^d	36.67±5.16 ^d	111.33±14.91 ^d	4.83±0.36 ^d
Grup II	115.00±7.32 ^d	35.33±6.19 ^d	108.83±12.56 ^d	4.92±0.22 ^d
Grup III	114.67±7.06 ^d	36.50±5.79 ^d	108.50±13.58 ^d	4.93±0.28 ^d
Grup IV	221.83±8.54 ^a	109.50±10.62 ^a	235.00±13.19 ^a	8.13±1.05 ^a
Grup V	196.00±8.37 ^b	89.83±7.81 ^b	200.00±17.80 ^b	6.14±0.54 ^b
Grup VI	182.50±15.18 ^c	75.50±6.25 ^c	168.50±10.82 ^c	6.00±1.36 ^c

* Grup I: Kontrol, Grup II: 125 mg/kg c.a ısırgan otu özütü, Grup III: 250 mg/kg c.a ısırgan otu özütü, Grup IV: 150 mg/kg c.a Paraben, Grup V: 150 mg/kg c.a Paraben + 125 mg/kg c.a ısırgan otu özütü, Grup VI: 150 mg/kg c.a Paraben+ 250 mg/kg c.a ısırgan otu özütü. AST: Aspartat Aminotransferaz, ALT: Alanin Aminotransferaz, BUN: Kan Üre Nitrojen. Veriler ortalama ± standart sapma (SD) olarak gösterildi (n = 6). Ortalamalar arasındaki istatistiksel önem "Duncan" testini takiben "one-way" ANOVA varyans analizi kullanılarak araştırıldı. Aynı sütün içerisinde farklı harfler ile belirtilen ortalamalar istatistiksel olarak önemlidir (P<0.05).

Paraben uygulamasının bazı biyokimyasal parametrelerde meydana getirdiği değişimler Tablo 3.6'da verilmiştir. Tablo incelendiğinde AST, ALT, BUN ve kreatinin düzeylerinde en fazla artış Paraben ile muamele edilen Grup IV'de, en az ise kontrol ve ısırgan otu özütünün 2 farklı dozu ile beslenen Grup II ve Grup III'de tespit edilmiştir. Grup IV'de ölçülen değerlerin ise bu gruba göre istatistiksel açıdan önemli olduğu belirlenmiştir (P<0.05). Paraben ile birlikte ısırgan otu özütü ile besleme Grup V ve Grup VI'da AST, ALT, BUN ve kreatinin değerlerinde Grup IV'e göre tekrar bir azalmaya neden olmuş, bu azalmanın ise istatistiksel açıdan önemli olduğu görülmüştür (P<0.05)

Tablo 3.7. Paraben'in MDA ve GSH düzeylerine etkisi

Gruplar	Karaciğer MDA (nmol/g)	Böbrek MDA (nmol/g)	Karaciğer GSH (mg/g)	Böbrek GSH(mg/g)
Grup I	0.45±0.06 ^d	0.55±0.08 ^d	0.33±0.04 ^a	0.52±0.03 ^a
Grup II	0.46±0.12 ^d	0.53±0.09 ^d	0.32±0.03 ^a	0.51±0.04 ^a
Grup III	0.46±0.9 ^d	0.53±0.15 ^d	0.32±0.04 ^a	0.52±0.04 ^a
Grup IV	1.23±0.97 ^a	1.59±0.11 ^a	0.12±0.01 ^d	0.22±0.03 ^d
Grup V	1.07±0.13 ^b	1.27±0.17 ^b	0.30±0.04 ^c	0.30±0.03 ^c
Grup VI	0.78±0.11 ^c	0.90±0.09 ^c	0.23±0.03 ^b	0.35±0.12 ^b

* Grup I: Kontrol, Grup II: 125 mg/kg c.a ısırgan otu özütü, Grup III: 250 mg/kg c.a ısırgan otu özütü, Grup IV: 150 mg/kg c.a Paraben, Grup V: 150 mg/kg c.a Paraben + 125 mg/kg c.a ısırgan otu özütü, Grup VI: 150 mg/kg c.a Paraben+ 250 mg/kg c.a ısırgan otu özütü. MDA: Malondialdehit, GSH: Glutatyon. Veriler ortalama ± standart sapma (SD) olarak gösterildi (n = 6). Ortalamalar arasındaki istatistiksel önem "Duncan" testini takiben "one-way" ANOVA varyans analizi kullanılarak araştırıldı. Aynı sütün içerisinde farklı harfler ile belirtilen ortalamalar istatistiksel olarak önemlidir (P<0.05).

Paraben'in oksidatif parametreler olan MDA ve GSH düzeylerine etkileri Tablo 3.7'de gösterilmiştir. Elde edilen veriler incelendiğinde en yüksek MDA ve en düşük GSH düzeyleri sadece Paraben ile muamele edilen Grup IV'de, en düşük MDA ve en yüksek GSH düzeyleri ise kontrol ve ısırgan otu özütünün iki farklı dozuyla muamele edilen Grup II ve Grup III'de ölçülmüştür. Grup IV'de ölçülen bu değerlerin ise söz konusu üç gruba göre istatistiksel açıdan önemli olduğu belirlenmiştir (P<0.05). Paraben ile birlikte ısırgan otu özütü ile besleme Grup V ve Grup VI'da MDA düzeylerinde Grup IV'e göre tekrar bir azalmaya, GSH düzeylerinde ise tekrar bir artışa neden olmuştur.

4. TARTIŞMA VE SONUÇ

Yaptığımız çalışmada Paraben'in albino farelerde meydana getirdiği fizyolojik, sitotoksik ve biyokimyasal etkiler ile bu etkilere karşı ısırgan otu özütünün koruyucu rolü araştırılmıştır. Paraben'in, günlük hayatımızda kullandığımız başta kozmetik ürünler olmak üzere ilaç ve besin maddelerinin de içeriğinde bulunması, yaptığımız çalışmanın önemini bir kat daha arttırmıştır.

Deneysel araştırmalar sonucunda, Paraben uygulamasının Swiss albino farelerde fizyolojik parametreler olan canlı ağırlık ve organ ağırlıklarında azalmaya neden olduğu, ısırgan otu özütü uygulamasının ise doza bağlı olarak söz konusu parametrelerde tekrar bir iyileşmeye yol açtığı belirlenmiştir. Litarütürde elde ettiğimiz verileri destekleyen tarzda benzer çalışmalar bulunmaktadır. Örneğin CTFA (19) tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada, 0.7% Metil Paraben ve 0.3% Propil Paraben içeren ürünler günlük 4.12 g/kg dozunda albino ratlara toplam vücut yüzeylelerinin traş edilmesi suretiyle uygulanmış, sonuçta kontrol grubuyla karşılaştırıldığında, uygulama grubundaki ratların vücut ağırlıklarında önemli bir azalma meydana geldiği rapor edilmiştir. Matthews ve ark. (20) tarafından gerçekleştirilen bir diğer çalışmada ise, 96 hafta süresince %2 ve %8'lik Metil Paraben ve Propil Paraben içeren diyetle beslenen ratlarda vücut ağırlığındaki değişim araştırılmış, sonuçta özellikle %8'lik diyet ile beslenen ratların vücut ağırlıklarında önemli bir azalma meydana geldiği tespit edilmiştir. Oishi (21) tarafından gerçekleştirilen bir başka çalışmada ise, Wistar ratlar, günlük diyetlerine ek olarak %0.01, %0.10 ve %1.00 oranında Propil Paraben ile 4 hafta süresince beslenmişler, sonuçta uygulama dozuna bağlı olarak vücut ağırlığının kontrol grubuna göre azaldığı belirlenmiştir. Vo ve ark. (22) tarafından 8 haftalık dişi Sprague–Dawley (SD) ratlarla gerçekleştirilen bir diğer çalışmada ise, günlük 62.5 mg/kg c.a. 250 mg/kg c.a. ve 1000 mg/kg c.a. dozlarında Etil Paraben ve İzopropil Paraben uygulamış, sonuçta her iki Paraben türevinde 1000 mg/kg c.a. dozunda böbrek organ ağırlığında azalmaya neden olduğu, İzopropil Paraben'in ise tüm uygulama dozlarında karaciğer organ ağırlığını azalttığı bildirilmiştir.

Bu çalışmada Paraben'in genotoksik etkileri ve bu etkilere karşı ısırgan otu özütünün koruyucu rolüde araştırılmıştır. Bu amaçla mikronukleus (MN) oluşumu ve kromozomal hasarlar genotoksisitenin indikatörleri olarak kullanılmışlardır. Sonuçta Paraben uygulamasının MN ve kromozomal hasar oluşumuna neden olduğu, ısırgan otu özütünün ise doza bağlı olarak bu hasarların sayılarını azalttığı tespit edilmiştir. Literatürde elde ettiğimiz bulguları destekleyen tarzda gerek Paraben gereksede diğer kimyasallarla gerçekleştirilmiş bazı çalışmalar bulunmaktadır. Örneğin Ishidate ve ark. (23) tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada Chinese hamster hücrelerine farklı dozlarda Metil Paraben, Etil Paraben ve Propil Paraben uygulanmış, sonuçta söz konusu Paraben türlerinin kromatid kırığı, gap ve ring şeklinde hasarlara neden olduğu belirlenmiştir. Heidemann (24) tarafından gerçekleştirilen bir diğer çalışmada ise, kozmetik sektöründe yaygın olarak kullanılan Triklosan, Chinese Hamster V79 hücrelerine 3 µ/ml dozunda uygulanmış, sonuç olarak kromozomal hasar sayılarında önemli bir artış meydana geldiği rapor edilmiştir. Roy ve ark. (25) tarafından gerçekleştirilen bir başka çalışmada ise, CD-1 farelere 250 mg/kg ile 5000 mg/kg arasında değişen dozlarda 1,4-Dioksan uygulanmış, sonuçta uygulama dozuna bağlı olarak kemik iliği hücrelerinde MN oluşum ve sıklığının arttığı tespit edilmiştir. Morita ve Hayashi (26) tarafından gerçekleştirilen benzer tarzdaki bir diğer çalışmada ise, CD-1 farelerine oral yolla farklı dozlarda 1,4-Dioksan uygulanmış, sonuçta 1,4 Dioksan'ın karaciğer hücrelerinde MN oluşumuna yol açtığı gösterilmiştir.

Bu çalışmada Paraben uygulamasının Swiss albino farelerinin serum AST, ALT, BUN ve kreatinin seviyeleri ile karaciğer ve böbrek dokularının MDA - GSH düzeylerinde de değişimlere neden olduğu belirlenmiştir. Paraben uygulaması AST, ALT, BUN, kreatinin ve MDA seviyelerinde kontrol grubuna göre önemli bir artışa neden olurken, GSH seviyelerinde ise önemli bir azalmaya neden olmuştur. Literatürde bizim elde ettiğimiz bulguları doğrulayan tarzda bazı çalışmalar mevcuttur. Örneğin Amin ve ark. (27) tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada, erkek albino ratlar 100 ve 500 mg/kg c.a. dozlarında Tartrazine ve Carmoisine ile oral yolla beslenmişler, sonuçta ALT, AST, kreatinin ve MDA düzeylerinde kontrol grubuna göre önemli bir artış, GSH düzeyinde ise önemli bir azalma tespit edilmiştir. El-Wahab ve Moram (28) tarafından gerçekleştirilen bir diğer çalışmada ise, erkek ratlar, sentetik renklendirici ve katkı maddeleri olarak kullanılan Brilliant Blue,

Carmoisine, Tartrazine, Transanethole, Propylene Glycol ve Vanillin ile 42 gün süresince beslenmişler, sonuçta serum ALT, AST, alkalın fosfataz (ALP), bilirubin, üre, kreatinin, total protein ve albümin seviyelerinde kontrol grubuna göre önemli bir azalma meydana geldiği rapor edilmiştir.

Sonuç olarak, günlük yaşamımızda başta kozmetik ürünler olmak üzere, pek çok ürünün bileşiminde yer alan Paraben'in Swiss albino farelerde toksik etkilere neden olduğu, ısırgan otu özütünün ise bu etkileri tersine çevirerek tekrar iyileşmeyi teşvik ettiği belirlenmiştir. Bu nedenle Paraben'in kullanımından vazgeçilmeli ya da üretim sektörü için çok elzem ise uygun doz eşiği belirlendikten sonra kullanılmalıdır. Ayrıca ısırgan otu özütü de Paraben ya da diğer kimyasallara maruz kalındığında bunların olumsuz etkilerini tersine çevirmek amacıyla koruyucu bir ürün olarak değerlendirilebilir.

KAYNAKLAR

1. Sağlık Bakanlığı. 2005. *Kozmetik Kanunu*.
2. Türkoğlu M, Pekmezci E. 2003. *Kozmetolojiye Giriş*. ARGOS İletişim Hizmetleri Reklamcılık ve Ticaret A.Ş., İstanbul
3. Sezgin D. 2011. Yaşam tarzı önerileri bağlamında sağlık haberlerinin analizi. *Ankara Üniversitesi Sosyal Bilimler Enstitüsü Dergisi* 2(2): 52-78.
4. Çalka, Ö., Karadağ, A. S., Akdeniz, N., Bilgili, S. G. 2011. Türkiyenin doğusunda kontakt dermatitli hastalarda deri yama testi sonuçları. *Türkderm* 45: 19-23.
5. Anderson F. A. 1995. Final report on the safety assessment of isobutylparaben and isopropylparaben. *Journal of the American College of Toxicology* 14(5): 364-372.
6. Rietschel R.L, Fowler J.F. 1995. *Fisher's Contact Dermatitis*. Baltimore. Williams and Wilkins.
7. Arslan, G. 2011. *Gıda Katkı Maddeleri ve Yeni Yapılan Dioksimlerin Gıda Katkı Maddesi Olarak Kullanılabilirliğinin Araştırılması*. Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi
8. Özşahin, A. D., Yılmaz, Ö., Tuzcu, M. 2011. Oksidatif Strese Maruz Kalan Ratların Eritrositlerinde Lipid Peroksidasyonu Oluşumu Üzerine Meyve Fenolik Bileşiklerinin Koruyucu Rolü. *Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Veteriner Dergisi* 25(1): 37-41.
9. Bakır, S. 2015. *Sisplatinin sıçan böbrek ve karaciğer dokusu üzerindeki toksik etkisine karşı nar suyu özütünün koruyucu etkinliğinin araştırılması*. Dicle Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Doktora Tezi
10. Guner, A., Turkez, H., Aslan, A. (2012). In Vitro Şartlarda Kadmiyumun Oluşturduğu Genetik ve Oksidatif Hasara Karşı Dermatocarpon intestiniforme (Liken) Ekstrelerinin Etkisi. *Ekoloji* 21(84): 38-46
11. Weber RW. 2003. Stinging nettle. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 90: A6. In: Tello, S., Halifeoğlu, İ., Bozkurt, M., & Bulmuş, Ö. 2008. Meme Kanseri Oluşturulmuş Ratlarda Isırgan Otunun Total Antioksidan Durumu Üzerine Etkisi. *Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Tıp Dergisi*, 22(4): 179.

12. Turel I, Oto G, Ayaz E, Yılmaz O, Mercan U. 2008. Anthelmintic activity of *Urtica dioica* L. in mice naturally infected with *Aspiculuris tetraptera*. *Journal of Animal and Veterinary Advances* 7 (12): 1642-1644.
13. Sezik E, Yesilada E, Honda G, Takaishi Y, Takeda Y, Tanaka T. 2001. Traditional medicine in Turkey. X. folk medicine in central anatolia. *Journal of Ethnopharmacology* 75 (2-3): 95-115.
14. Gözümlü S, Tezel A, Koc M. 2003. Complementary alternative treatments used by patients with cancer in eastern Turkey. *Cancer Nursing* 26: 230-236.
15. Te-Hsiu, M. A., Zhou, X., Loarco, G. F., Arreola, G. G., Lecona, S. U. 1995. Mouse–erythrocyte micronucleus (MUS-EMN) assay on the clastogenicity of industrial wastewater. *Rev. Int. Contam. Ambient*, 11: 95-98.
16. Savage, J. R. 1976. Classification and relationships of induced chromosomal structural changes. *Journal of Medical Genetics*, 13(2): 103-122.
17. Yoshioka, T., Kawada, K., Shimada, T., Mori, M. 1979. Lipid peroxidation in maternal and cord blood and protective mechanism against activated-oxygen toxicity in the blood. *Am J Obstet Gynecol*, 135(3): 372-376.
18. Beutler, E., Duron, O., Kelly, B. M. 1963. Improved method for the determination of blood glutathione. *The Journal of Laboratory and Clinical Medicine*, 61: 882-888.
19. CTFA, 1981. Thirteen-week subchronic dermal toxicity study in albino rats with medicated cream containing methyl paraben and medicated lotion containing propyl paraben. Study Project Code AT0165. CTFA Code No. 2-7-113 (unpublished report cited in Elder, 1984).
20. Matthews, C., Davidson, J., Bauer, E., Morrison, J.L., Richardson, A.P. 1956. p-Hydroxybenzoic acid esters as preservatives. II. Acute and chronic toxicity in dogs, rats, and mice. *Journal of American Pharmaceutical Association* 45: 260–267.
21. Oishi, S. 2002. Effects of propyl paraben on the male reproductive system. *Food and Chemical Toxicology*, 40(12): 1807-1813.
22. Vo, T. T., Yoo, Y. M., Choi, K. C., Jeung, E. B. 2010. Potential estrogenic effect (s) of parabens at the prepubertal stage of a postnatal female rat model. *Reproductive Toxicology*, 29(3): 306-316.

23. Ishidate, M., Hayashi, M., Sawada, M., Matsuoka, A., Yoshikawa, K., Ono, M., Nakadate, M., 1978. Cytotoxicity of medical drugs. Chromosome aberration tests in Chinese hamster cells in vitro. *Eisei Shikensho Hokoku* 96: 55–61.
24. Heidemann A. 1990. Chromosome aberration assay in Chinese Hamster V79 cells in vitro with FAT 80'023/Q. Cytotest Cell Research. CCR projectno. 179100. December 27.
25. Roy, S. K., Thilagar, A. K., Eastmond, D. A. 2005. Chromosome breakage is primarily responsible for the micronuclei induced by 1,4-dioxane in the bone marrow and liver of young CD-1 mice. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis* 586(1): 28-37.
26. Morita, T., Hayashi, M., 1998. 1,4-Dioxane is not mutagenic in five in vitro assays and Mouse peripheral blood micronucleus assay, but is in Mouse liver micronucleus assay. *Environmental and Molecular Mutagenesis* 32: 269–280.
27. Amin, K. A., Hameid, H. A., Elsttar, A. A. 2010. Effect of food azo dyes tartrazine and carmoisine on biochemical parameters related to renal, hepatic function and oxidative stress biomarkers in young male rats. *Food and Chemical Toxicology* 48(10): 2994-2999.
28. El-Wahab, H. M. F. A., Moram, G. S. 2012. Toxic effects of some synthetic food colorants and/or flavor additives on male rats. *Toxicology and industrial health* 29: 224-232.

ÖZGEÇMİŞ

1990 Yılında İstanbul'da doğdu. İlk ve orta öğrenimini İstanbul'da tamamladı. 2009 Yılında girdiği Giresun Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümünden 2013'de mezun oldu. Aynı yıl girdiği Giresun Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji A.B.D. Yüksek Lisans Programından Ağustos 2015'te mezun oldu.