

ELIF GÖZDE UTKU TÜRK

İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ SAĞ. BİL. ENST.

YÜKSEK LİSANS TEZİ

İSTANBUL-2019

**T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

(YÜKSEK LİSANS TEZİ)

**DÖVME BOYALARININ FOTOTOKSİSİTE
POTANSİYELİNİN IN VİTRO 3T3 NRU FOTOTOKSİSİTE
TEST SİSTEMİ İLE BELİRLENMESİ**

ELİF GÖZDE UTKU TÜRK

**DANIŞMAN
PROF. DR. BUKET ALPERTUNGA**

FARMASÖTİK TOKSİKOLOJİ ANABİLİM DALI

İSTANBUL-2019

TEZ ONAYI

YÜKSEK LİSANS TEZİ ONAYI

İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü . Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalı, YÜKSEK LİSANS Programında Yüksek Lisans öğrencisi ELİF GÖZDE UTKU TÜRK tarafından Prof.Dr. BUKET ALPERTUNGA'nın danışmanlığında hazırlanan "Dövme Boyalarının Fototoksikite Potansiyelinin In Vitro 3T3 NRU Fototoksikite Test Sistemi İle Belirlenmesi" başlıklı tez aşağıdaki jüri üyeleri tarafından. 26/07/2019 tarihinde yapılan Tez Savunma Sınavında başarılı bulunmuş ve Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı
Prof.Dr. GÜLDEN Z. OMURTAG
Medipol Üniversitesi Eczacılık Fakültesi
Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalı

Jüri-Danışman

Prof.Dr. BUKET ALPERTUNGA
İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi
Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalı

Jüri

Doç.Dr. EREN ÖZÇAĞLI
İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi
Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalı

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

Elif Gözde UTKU TÜRK



İTHAF

“Hayatımın ışığı biricik kızıma, her zaman kalbimde yaşacak sevgili babama, tüm zorluklara göğüs germe sebebim olan anneme, ablama ve eşime ithaf ediyorum...”

TEŞEKKÜR

Çalışmam sırasında değerli bilgileri ile her zaman yanımda olan, doğru yönlendirmeleri ile çalışmamı kolaylaştıran, anlayışı ile geçirdiğim zor günlerimde hayatıma kattığı anlamı hiçbir zaman unutmayacağım sevgili danışman hocam Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Buket ALPERTUNGA'ya,

Deneysel çalışmalarım sırasında yardımını benden esirgemeyen, çalışmamın en iyi olması için beni yüreklendiren sevgili arkadaşım Araş. Gör. Tarbın ÇEVİK JANUSSI'ye,

BALB-C 3T3 hücrelerimi edinmemde yardımcı olan Sayın Prof. Dr. Hatice Mehtap KUTLU'ya,

Bilgi birikimleri ile yardıma ihtiyacım olduğu her zaman yanımda olan Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalı'nda görevli sayın hocalarıma, araştırma görevlisi arkadaşlarıma, öğrenci arkadaşlarıma ve çalışanlarına,

Hayatıma girdiği andan itibaren hayatıma mutluluk katan biricik kızım Elif Nisan'ıma; beni dünyanın en şanslı insanı yapan birtanecik hayat arkadaşım, yoldaşım, eşim Özgür TÜRK'e,

Koşulsuz sevgi, koşulsuz güven ve koşulsuz emekle hiç bıkmadan beni yetiştiren sevgili annem Cahide UTKU'ya; en yakın dostum ve her konuda en büyük destekçim olan canım ablam Tuba UTKU'ya

Eğitim hayatımı en çok destekleyen, kendisi de bir eğitimci olarak pek çok genci yetiştiren ve artık kalbimin en içinde yaşayan, her zaman çok seveceğim ve çok özleyeceğim sevgili babam Nevzat UTKU'ya teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI	II
BEYAN.....	III
İTHAF.....	iii
TEŞEKKÜR.....	V
İÇİNDEKİLER	VI
TABLolar LİSTESİ.....	VI
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	viii
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ	XIII
ÖZET	xiii
ABSTRACT.....	XIV
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1 Dövmenin Tarihçesi.....	3
2.2. Dövme Boyaları.....	6
2.2.1. Pigmentler	6
2.2.2. Dolgu Maddeleri	14
2.2.3. Çözücüler	14
2.2.4. Bağlayıcılar	15
2.2.5. Katkı Maddeleri	16
2.3. Dövme Boyaları İle Alakalı Yasal Düzenlemeler	17
2.4. Fototoksisite.....	20
2.4.1. Fototoksisitenin Mekanizması	21
2.4.2. Fototoksisite Test Yöntemleri.....	23
2.5. 3T3 NRU Fototoksisite Testi	24
2.5.1. 3T3 NRU Fototoksisite Testinin Tanımlanması.....	24
2.5.2. 3T3 NRU Fototoksisite Testinin Prensipleri	25
2.5.3. 3T3 NRU Fototoksisite Testi'nde Sonuçların Hesaplanması ve Raporlanması	26

2.6. Dövmeye Boyalarından İleri Gelen Fototoksik Etkiler ve Dövmeye Boyaları İle İlişkili Advers Reaksiyonlar.....	27
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	34
3.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler.....	34
3.2. Kullanılan Alet ve Cihazlar.....	35
3.3. Kullanılan Sarf Malzemeler.....	36
3.4. Hücre Kültürü Çalışmaları.....	36
3.4.1. Hücre Kültürü Çalışmalarına Hazırlık.....	36
3.4.2. Balb/c 3T3 Hücresinin Temini.....	36
3.4.3. Hücre Kültürü Çalışmasında Kullanılan Çözeltiler.....	37
3.4.4. Hücre Hattının Kültürü.....	37
3.4.5. Hücrelerin Pasajlanması.....	38
3.4.6. Hücrelerin Saklanması.....	38
3.4.7. Hücrelerin Sayılması.....	38
3.4.8. Hücrelerin Mikropalakalara Ekimi.....	39
3.5. 3T3 NRU Fototoksosite Test Çalışmaları.....	39
3.5.1. Hücre Kültürlerinin Hazırlanması.....	39
3.5.2. Dövmeye Boyası ve Klorpromazin Çözeltilerinin Hazırlanması.....	39
3.5.3. UV Işın Kaynağı.....	41
3.5.4. 3T3 NRU Fototoksosite Çalışmaları.....	41
3.5.5. 3T3 NRU Fototoksosite Çalışmalarının Doğrulanması.....	45
3.5.6. 3T3 NRU Fototoksosite Çalışmaları Sonucunda Elde Edilen Verilerin Değerlendirilmesi ve Raporlanması.....	45
4. BULGULAR.....	47
5. TARTIŞMA.....	54
KAYNAKLAR.....	59
İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI.....	64
ÖZGEÇMİŞ.....	65

TABLolar LİSTESİ

Tablo 2.1: Dövmenin Tarihçesi.....	5
Tablo 2.2: Dövmeye boyalarında kullanılan pigmentlerin listesi.....	7
Tablo 2.3: İnorganik ve organik pigmentlerin karşılaştırılması.....	13
Tablo 2.4: Dövmeye boyalarında kullanılan çözücülerin kullanım amaçları.....	15
Tablo 2.5: Fototoksik reaksiyonların ana özellikleri.....	21
Tablo 2.6: 3T3 NRU Fototoksikite testinde pozitif kontrol olarak kullanılan kimyasallar.....	26
Tablo 3.1: PHOTOTOX programına yüklenen absorban değerleri şablonu.....	46
Tablo 4.1: Tüm dövme boyaları için elde edilen MPE değerleri ve fototoksikitenin değerlendirilmesi.....	49
Tablo 4.2: Eternal Dövmeye Boyası Mavi Muter Earth için elde edilen (+UV) ve (-UV) absorban değerleri.....	50
Tablo 4.3: Intenze Dövmeye Boyası Kırmızı Bright Red için elde edilen (+UV) ve (-UV) absorban değerleri.....	51
Tablo 4.4: Tang Dragon Dövmeye Boyası Siyah için elde edilen (+UV) ve (-UV) absorban değerleri.....	52

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1: Buz Adam Ötzi'nin mumyasında yer alan dövmelemin yerlerinin şematik olarak gösterilmesi.....	4
Şekil 2.2: Buz Adam Ötzi'nin mumyasında yer alan dövmelemin gösterilmesi.....	4
Şekil 2.3: Dövmeye boyaların oluşturulan bileşenler.....	6
Şekil 2.4: Titanyum dioksitin fiziksel görünümü.....	10
Şekil 2.5: Demir (III) oksit ve Demir oksit sarısı ($Fe_2O_3 \cdot H_2O$)'nin fiziksel görünümü.....	10
Şekil 2.6: Krom oksit yeşil (Cr_2O_3)'in fiziksel görünümü.....	11
Şekil 2.7: Azo pigmentlerin yapısal gösterimi.....	11
Şekil 2.8: Monoazo ve Diazo pigmentlere örnekler.....	12
Şekil 2.9: Karbon siyahının fiziksel görünümü.....	14
Şekil 2.10: Bağlayıcı maddelerin şematik olarak gösterilmesi.....	16
Şekil 2.11: Güneş ışınlarının deriden geçişi.....	23
Şekil 2.12: Yüzde cevap-konsantrasyon grafiği.....	27
Şekil 2.13: Dövmeye iğnesinin deriye uygulamasının gösterimi.....	28
Şekil 2.14: Dövmeye boyasının deriye uygulamasının gösterimi.....	29
Şekil 2.15: Deriye uygulanan dövmeye boyası miktarı ve uygulama alanı ölçüsü arasındaki ilişki.....	29
Şekil 2.16: Deride dövmeye boyasının uygulanmasını takiben bağışıklık sistemin verdiği cevabın gösterimi.....	30
Şekil 3.1: 96 kuyucuklu mikropalakada maruziyet düzeni.....	42
Şekil 3.2: In vitro 3T3 NRU fototksisite testinin şematik olarak gösterimi.....	43
Şekil 3.3: Çalışmalarda kullanılan Intenze, Eternal ve Tang Dragon dövmeye boyaları...	44
Şekil 4.1: Klorpromazin için elde edilen bulgular.....	48-49
Şekil 4.2: Tüm dövmeye boyaları için elde edilen MPE değerlerinin grafiksel gösterimi.	50

- Şekil 4.3: Eternal Dövme Boyası Mavi Muter Earth için elde edilen (+UV) ve –UV absorbands değerlerinin grafiksel gösterimi.....51
- Şekil 4.4: Intenze Dövme Boyası Kırmızı Bright Red için elde edilen (+UV) ve –UV absorbands değerlerinin grafiksel gösterimi..... 52
- Şekil 4.5: Tang Dragon Dövme Boyası Siyah için elde edilen (+UV) ve –UV absorbands değerlerinin grafiksel gösterimi.....53

SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

AB	Avrupa Birliği
CLP	Madde ve Karışımlar İçin Avrupa Birliği Sınıflandırma, Etiketleme ve Ambalajlama Tüzüğü
Cm	Santimetre
CMR	Kanserojenik, mutajenik madde
CoE	Avrupa Konseyi
DE _c	Doz etki
DMEM	Fenol kırmızı içermeyen besiyeri
DMSO	Dulbecco'nun modifiye edilmiş eagle besiyeri Dimetilsülfoksit
DPRA	Direkt Peptit Reaktiflik Analizi
FDA	Amerika Gıda ve İlaç Dairesi
G	Gram
GPSD	Genel Ürün Güvenliği Direktifi
GTİP	Gümrük Tarife İstatistik Pozisyonu
IC ₅₀	Hücre canlılığını %50 oranında düşüren konsantrasyon
μ	Mikron
mg	Miligram
mL	Mililitre
mm	Milimetre
mW	Mili watt
MÖ	Milattan Önce

MPE	Ortalama Foto Etkisi
nm	Nanometre
NK	Negatif Kontrol
NR	Nötral kırmızı
NRU	Nötral kırmızı alım
OECD	Ekonomik İşbirliği ve Kalkınma Örgütü
PAH	Polisiklik aromatik hidrokarbon
PBS	Fosfat tamponu
PE _c	Foto etki
PIF	Foto Irritasyon Faktörü
PK	Pozitif Kontrol
PSE	Bireysel hizmetler kuruluşu
QSAR	Kantitatif Yapı-Etki İlişkileri
RE _c	Cevap Etki
REACH	Kimyasalların Kaydı, Değerlendirilmesi, İzni ve Kısıtlanması
ROS	Reaktif oksijen türleri
SCC	Birinci, ikinci ve üçüncü skuamöz hücreli karsinom
UV	Ultraviyole
UVA	Ultraviyole A
UVB	Ultraviyole B

ÖZET

UTKU TÜRK Elif Gözde. Dövme Boyalarının Fototoksisite Potansiyelinin İn Vitro 3T3 NRU Fototoksisite Test Sistemi İle Belirlenmesi. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Farmasötik Toksikoloji ABD. Yüksek Lisans Tezi. İstanbul. 2019.

Geçmiş insanlık tarihine dayanan dövme, günümüzde de oldukça yaygın olarak kullanılmaktadır. Dövme yapılırken kullanılan dövme boyalarının uygulamayı takiben çeşitli toksik etkiler oluşturduğu yönünde vakalara rastlanmış ve dövme uygulamasını takiben güneş ışığına maruziyette fototoksik etkiler rapor edilmiştir.

Dövme boyalarının fototoksik etki oluşturup oluşturmadığı ile alakalı yapılan herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Bu çalışmada; Türkiye’de en yaygın kullanılan üç farklı marka dövme boyasının mavi, kırmızı ve siyah renklerinin fototoksisite özellikleri in vitro 3T3 NRU fototoksisite testi ile incelenmiştir. Çalışmada Balb/c 3T3 hücreleri kullanılmıştır. Test sonuçları PHOTOTOX programı ile değerlendirilmiştir. İncelenen dövme boyaları 3T3 NRU testinde fototoksisite göstermemişlerdir. Sonuçların fototoksisiteye ilişkin farklı testlerle doğrulanması gerekmektedir.

Anahtar Kelimeler: Fototoksisite, in vitro fototoksisite, 3T3 NRU fototoksisite testi, dövme boyası, Balb/c 3T3 hücreleri

ABSTRACT

UTKU TÜRK Elif Gözde. Determination of The Phototoxicity Potential of Tattoo Inks By Performing In Vitro 3T3 Nru Phototoxicity Test System. Istanbul University, Institute of Health Science, Pharmaceutical Toxicology Department. Master Thesis. İstanbul. 2019.

Tattoo, whose history based on the history of mankind, is still widely used today. There were some cases in which the tattoo inks used in order to apply tattoo had various toxic effects following tattoo application and phototoxic effects were reported after exposure to sunlight.

No studies about whether tattoo inks have phototoxic effect have been found.

In this study, the phototoxicity of blue, red and black colors of the most commonly used three different tattoo ink brands have been examined by performing in vitro 3T3 NRU phototoxic test. Balb/c 3T3 cells have been used in the study. The test results have been evaluated with PHOTOTOX program. It is observed that according to the 3T3 NRU test, the tattoo inks are non-phototoxic. The results must be verified by different phototoxicity tests.

Key Words: Phototoxicity, in vitro phototoxicity, 3T3 NRU phototoxicity test, tattoo ink, Balb/c 3T3 cells

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Dövme kimi zaman bir dini ritüel, kimi zaman bir yaşam tarzı, kimi zaman da askeri bir simge olarak karşımıza çıkmaktadır. İnsanlık olduğu sürece varolan ve varolacak olan dövme günümüzde de popüleritesini korumaktadır. Dövme, dövme boyasının bir iğne yardımıyla derinin 1.5-2 mm altına dermis tabakasına uygulanması ile yapılır. İğne epidermisi geçerek dermise ulaşır ve papiler tabakaya nüfuz eder (Grant ve ark. 2015).

Dövme boya ları de ğişik formülasyonlara sahiptir. Genel olarak dövme boya ları pigmentlerin bir çözücü içerisinde süspande edilmesi ile hazırlanırlar. Pigment ve çözücü haricinde dövme boya larında bağlayıcı maddeler, koruyucular, kıvam verici gibi katkı maddeleri ve antioksidanlar bulunmaktadır (Dirks 2015).

Fototoksisite, ışıktan kaynaklanan doku reaksiyonlarını tanımlamakta olup organizmaya uygulanan bir maddeye ışığa maruziyet sonrasında derinin toksik cevabıdır. Fototoksisite kimyasal bir maddeye organizmanın sistemik veya topikal olarak maruz kalmasının ardından ışıkla temas etmesi sonucunda akut olarak ortaya çıkar. Fototoksisitenin belirtileri olarak deride ödem, iritasyon deri yanıkları ve kaşıntı gözlenir (Köse ve ark. 2017). Fototoksisitenin meydana gelmesi için fotonların kromofor veya fotohassasslaştırıcı bir molekül tarafından absorbe edilmesi gerekir (Mang ve ark. 2011). Serbest oksijen oluşumuna sebep olan reaktif oksijen türleri (ROS'lar) ciltte doğal olarak bulunurlar ve endojen fotohassasslaştırıcı olarak isimlendirilirler. Organizma kendi doğal enzimatik savunma mekanizması ile ROS'ların seviyesini kontrol altında tutar. Ancak bazı dövme pigmentleri ROS'ların üretimini artırır. Bunun sonucunda ciltte ödem, yanma ve ağrı gibi semptomlar oluşur. Özellikle siyah pigmentler birden fazla aromatik bileşen içerebilmektedir. Bu durum ultraviyole (UV) ışın ile maruziyette singlet oksijen oluşumuna sebebiyet vermektedir (Serup ve ark. 2015). Dövme boya ları karbon siyahı ve kanserojen, mutajenik olduğu bildirilen ve başka sağlık risklerine de yol açabilen farklı konsantrasyonlarda polisiklik aromatik hidrokarbonlar (PAH'lar) içerebilirler (Grant ve ark. 2015). PAH'ların UV ışık ile singlet oksijen oluşturma potansiyeli göstererek karsinojenik ve mutajenik etkiye sahip olduğu sapanmıştır (Kluger ve ark. 2012 pp. 161-168). Buna ilaveten özellikle siyah ve kırmızı dövme boya larının, ışığa duyarlılık, cilt lezyonu ve kaşıntı gibi istenmeyen

etkiler gösterebileceği bildirilmiştir (Grant ve ark. 2015). Siyah boyada bulunan dibütilfitalat, heksakloro-1,3-bütadien, metenamin, dibenzofuran, benzofenon ve 9-florenon maddelerinin de UV ışık ile karsinogenik etki oluşturma potansiyeli olabileceği üzerinde durulmaktadır (Kluger ve ark. 2012 pp. 161-168).

Dövme uygulamasını takiben meydana gelen fototoksik reaksiyonlar rapor edilmiştir. Bir Alman çalışmasında yakın bir zamanda dövme yaptırmış kadınların %1,6'sında, erkeklerin %0,8'inde güneş maruziyeti sonucunda fototoksik etki rapor edilmiştir. Fransız dövmecilerin %23'ünde güneşe maruziyet sırasında ve sonrasında güneşe maruz kalmış dövmeli vücut bölgelerinde şişme rapor edilmiştir. Danimarka'da ise dövmeli bireylerin neredeyse %15,6'sının veneroloji kliniğine başvurduğu kaydedilmiştir. 3 aydan daha uzun süre önce dövme yaptıran ve Danimarka'da bir plajda güneşlenen kişilerin %21,5'unda fototoksik semptomlar saptanmıştır (Johansen ve ark. 2017).

3T3 NRU Fototoksisite testi test maddesinin ışığa maruz kalmasından sonra fototoksik etki oluşturma potansiyelinin belirlendiği in vitro test metodudur. Test, ışığın varlığında kimyasal maddeye maruz kalan hücrelerin yaşayabilirliğinde azalma olup olmadığını tespit ederek foto-sitotoksisitenin değerlendirilmesini sağlar. Test edilen maddeler çıkan sonuçlara göre in vivo fototoksik veya fototoksik değil olarak değerlendirilir (OECD 2004).

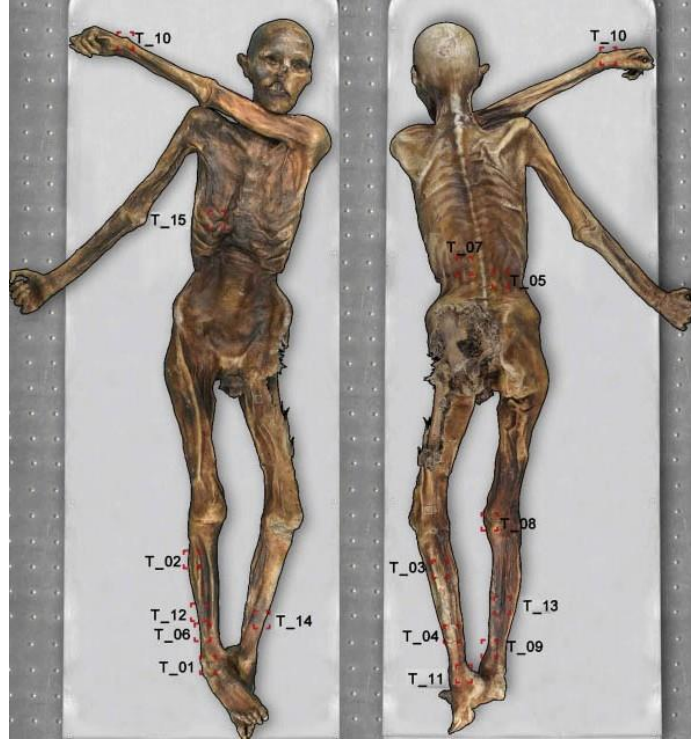
Dövme boyaalarının fototoksisitesinin araştırıldığı bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu çalışmada fototoksik riski yüksek olan siyah, kırmızı ve mavi renkte üç farklı markadan dövme boyası 3T3 NRU fototoksisite testi ile incelenmiştir. Çalışmaya dünyada ve Türkiye'de en çok kullanılan üç marka (Eternal, Intenze ve Tang Dragon) dövme boyaaları dahil edilmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 Dövmenin Tarihçesi

Dövme kelime anlamı olarak “vücut derisi üzerine iğne vb. sivri bir araçla çizilmek ve içine renk veren maddeler konulmak yoluyla yapılan yazı veya resim” anlamına gelmektedir (Türk Dil Kurumu 2019). Günümüzde Batı dillerinde kullanılan dövme sözcüğü, Tahiti dilinde dövme yaparken çıkan ritmik bir sesin yankısı olan "ta-tatu" sözcüğünden türemiştir. “Ta-tatu” sözcüğü zaman içinde "tattaow", "tattoo" olarak değişmiş ve günümüzde İngilizce "tattoo", Fransızca "tatouage", Almanca "tatauierung" halini almıştır. Arapçada ise dövme “veşm”, “vişam”, “vuşum” kelimeleri ile ifade edilir ve “iğne ve siyah bir tozla vücudun üzerine yapılan şekil” anlamına gelir (Çerikan ve Alanko 2016 pp. 166-193).

Dövme yapımına ait tarihsel kanıtlar iki grupta toplanmaktadır. Bunlar yazılı döneme ilişkin kanıtlar ve yazı öncesi döneme ilişkin kanıtlardır. Yazılı döneme ilişkin kanıtlar, Tevrat başta olmak üzere MÖ 1400 yılından günümüze ulaşmayı başaran Antik Yunan ve Roma dönemi tarihçilerinin el yazmalarından oluşur. Yazı öncesi döneme ilişkin kanıtlar değişik arkeolojik kazılardan edinilen resimler, heykeller, dövme araç ve gereçleri ile mumyalanarak günümüze kadar korunabilmiş dövmeli insan bedenlerinden oluşur (Çerikan ve Alanko 2016 pp. 166-193).



Şekil 2.1: Buz Adam Ötzi'nin mummyasında yer alan dövmeleerin yerlerinin şematik olarak gösterilmesi-(Callawey 2009)

Günümüze kadar ulaşabilmiş sınırlı sayıdaki mummyalar sayesinde dövmenin geçmişinin Cilalı Taş Devri'ne (MÖ 8000-5500) kadar uzandığı anlaşılmaktadır (Yücel ve Çevik 2017). Dövme ile alakalı en eski kalıntılar, İskandinavya, Fransa ve Portekiz'de yer alan değişik mağaralarda yapılan arkeolojik çalışmalarla bulunmuştur (Şekil 2.1 ve Şekil 2.2) (Çerikan ve Alanko 2016 pp. 166-193).



Şekil 2.2: Buz Adam Ötzi'nin mummyasında yer alan dövmeleerin gösterilmesi-(Scallan 2015)

Geçmiş insanlık tarihine dayanan dövme farklı kültürlerde farklı amaçlarla kullanılmıştır. Kimi zaman aynı meslekten kişilerin birbirlerini tanıması için yaptıkları tanıma aracı olan dövme kimi zaman da dini bir sembol niteliği taşımaktadır (Hazar 2007). Mısırlılar dövmeyi; süslenme, tedavi, köle, suçluların birbirlerinden ayırt edilebilmesi ve büyü amacı ile kullanmışlardır. Roma İmparatorluğunda dövme, satın alınan kölelerin kime ait olduğunun gösterilmesi amacı ile kullanılmıştır. Hun, Kazak ve Kırgız gibi eski Türk ya da Doğu toplumlarında dövme, soyluluk simgesi olarak kullanılmıştır. Osmanlı döneminde ise dövme Yeniçerilerin bağlı bulunduğu “orta”yı ifade etmek için kullanılmıştır (Çerikan ve Alanko 2016 pp. 166-193). 19. yüzyılda dövme İngiliz ordusunda da sıklıkla uygulanmıştır. Askerlerin ait oldukları birlikleri göstermesi, yaralı askerlerin hangi birliğe ait olduğunu ve kimliğinin tespiti için kullanılan dövme aynı zamanda ordu birliği ruhunun güçlenmesi için de kullanılmıştır (Yücel ve Çevik 2017). Dövmenin Tarihçesi ve değişimine ilişkin bilgiler Tablo 2.1’de yer almaktadır.

Tablo 2.1: Dövmenin Tarihçesi-(Frecentese 2013)

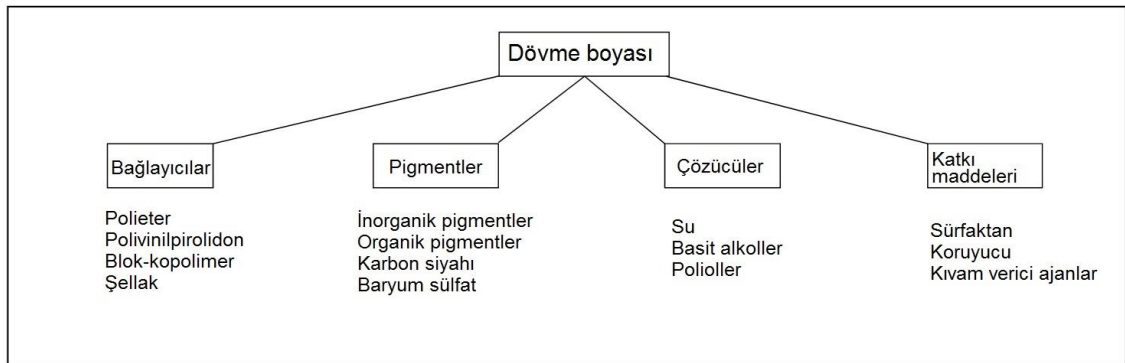
Taş Devri	M.Ö. 600 000-M.Ö. 5000	Kil ve aşı boyası disklerinin dövme ile ilgili olarak kullanıldığı düşünülmektedir.
	M.Ö. 5000	Japonyada dekoratif amaçlı olarak dövme yapılmaya başlandığı düşünülmektedir.
Tunç Devri	M.Ö. 3750 M.Ö. 3300	Ötzi (MÖ 3250 yılları civarında İtalya-Avusturya sınırındaki Alpler’de ölüp buzulun altında kaldığı için mumyalaşan Buz Adam Ötzi’nin vücudunda toplam 61 adet dövme vardır).
	M.Ö. 2160-1994	11. Mısır Hanedanı, bilinen 3 düvmelenmiş mumya kalıntılarını üretti
Demir Çağı	M.Ö. 1500’ler	Mısırdaki ilk defa bir şekil dövme yapılırken kullanıldı.
	M.Ö. 1200	Polinezya’da ilk defa dekoratif amaçlı dövme yapıldığı düşünülmektedir.
	M.Ö. 400	Pazırık Savaşçıları
	M.Ö. 247	Japonya’da dövme kullanımı ilk kez kaydedildi.
	M.Ö. 27	Roma İmparatorluğu’nda dövme kullanımı başlanmıştır ve dövme ile cezalandırmalar söz konusudur.
	M.S. 300-500	St. Lawrence Adası kalıntıları (Kadınlar yüzlerine, erkekler ağız çevrelerine dövme yaparlardı. Dövme boyası olarak is ve grafit insan idrarı ile karıştırılarak kullanılırdı.)
M.S. 1769	Kaptan Cook’un Polinezya Adalarına Yolculuğu	

Günümüzde dövme tüm dünyada toplumların farklı sosyal, kültürel ve ekonomik kesimlerindeki her yaştan kişiler tarafından uygulanmaktadır.

2.2. Dövme Boyaları

Dövme boyaları çok çeşitli formüllerle hazırlanırlar. Piyasada satılan dövme boyalarının kesin formülleri ticari kaygılar ve yasal bir mecburiyet olmaması sebebiyle paylaşılmamaktadır.

Dövme boyaları pigmentlerin bir çözücü içerisinde karıştırılması ile hazırlanır. Hazırlanan karışım süspansiyondur (Dirks 2015). Partiküllerin boyutu genelde 800 nanometredir. Siyah pigmentler ise genelde 100 nanometreden daha küçüktür. Bu sebeple nanopartikül olarak da adlandırılabilirler (Serup ve ark. 2015). Dövme boyalarında pigment ve çözücü haricinde bağlayıcı maddeler ve koruyucu, kıvam verici gibi katkı maddeleri bulunmaktadır (Dirks 2015). Ayrıca dövme boyalarına oksidasyona karşı koruyucu olması için antioksidanlar da eklenebilmektedir (Serup ve ark. 2015). Şekil 2.3’de dövme boyasını oluşturan maddeler şematik olarak gösterilmiştir.



Şekil 2.3: Dövme boyalarını oluşturan bileşenler-(Dirks 2015).

2.2.1. Pigmentler

Pigmentler, organik veya inorganik yapıda olup çözücüde çözünmeyen küçük partikül büyüklüğüne sahip renkli veya renksiz kimyasallardır. Pigmentlerin büyük bir çoğunluğunun boyutu 0,01-1,00 μ arasındadır.

Bir pigmentin tanecik büyüklüğünün değişmesi pek çok özelliğini etkiler. Pigmentin tanecik büyüklüğü azaldıkça pigmentin renk şiddeti artar ve rengi kısa dalga boyuna doğru kayar. Pigmentin saydamlığı artar ve örtücülüğü azalır. Aynı zamanda pigmentin direnci azalır (T.C. Millî Eğitim Bakanlığı 2013 pp. 7).

Dövme boylarında kullanılan pigmentler organik, inorganik, karbon siyahı ile baryum sülfat ve silika gibi dolgu maddelerdir. Çözücü içerisinde tam olarak çözünmezler. Boyalar çözücü içerisinde yüksek miktarda çözünme eğilimi gösterirler ve uygulamadan sonra çok hızlı bir şekilde biyolojik olarak parçalanmaya başlarlar. Bu sebeple boyalar renklendirici olarak dövme boylarında kullanılamazlar. Dövme boylarında kullanılacak renk verici maddenin çözücü içerisinde çözünmemesi gerekmektedir.

Dövme endüstrisinde kullanılan pigmentlerin büyük kısmı organik pigmentlerdir (yaklaşık %84'ü). Organik pigmentler içerisinde en çok kullanılan grup azo pigmentlerdir (yaklaşık %64) (Piccinini ve ark. 2015).

Tablo 2.2'de dövme boylarında kullanılan pigmentlerin listesi verilmiştir.

Tablo 2.2: Dövme boylarında kullanılan pigmentlerin listesi-(Cuyper ve ark. 2010; Mikkelsen ve ark. 2004)

Pigmentin Adı	Kimyasal Adı	Kimyasal Sınıfı
Pigment Sarı 1	2-[(4-Metil-2-nitrofenil)azo]-3-okso-N-fenilbutiramit	Organik, Azo
Pigment Sarı 74	Butanamide, 2-[(2-methoxy-4-nitrophenyl) azo]-N-(2-methoxyphenyl)- 3-oxo-	Organik, Azo
Pigment Sarı 97	Butanamide, N-(4-chloro-2,5-dimethoxyphenyl)- 2-[[2,5-dimethoxy-4-[(phenylamino) sulfonyl]phenyl]azo]-3-oxo-	Organik, Azo
Pigment Turuncu 36	Butanamide, 2-(4-chloro-2-nitrophenyl)azo-n-(2,3-dihydro-2-oxo-1h-benzimidazol-5-yl)-3-oxo-	Organik, Azo
Sudan Kırmızı	1-[(2-methoxyphenyl)hydrazinylidene]n	Organik, Azo
Pigment Kırmızı 269	N-(5-chloro-2-methoxyphenyl)-3-hydroxy-2-naphthamide	Organik, Azo
Pigment Turuncu 22	disodium;5-[[4-anilino-6-(diethoxyamino)-1,3,5-triazin-2-yl]amino]-2-[(Z)-2-[4-[[4-anilino-6-(diethoxyamino)-1,3,5-triazin-2-yl]amino]-2-sulfonatophenyl]ethenyl]benzenesulfonate	Organik, Azo

Pigment Kırmızı 266	2-Naphthalenecarboxamide, 4-[[4-(aminocarbonyl)phenyl] azo]-3-hydroxy-N-(2-methoxyphenyl)-	Organik, Azo
Pigment Kırmızı 170	2-Naphthalenecarboxamide, 4-[[4-(aminocarbonyl)phenyl] azo]-N-(2-ethoxyphenyl)-3-hydroxy-(2786-76-7)	Organik, Azo
Pigment Kırmızı 146	2-Naphthalenecarboxamide, N-(4-chloro-2,5-dimethoxyphenyl)- 3-hydroxy-4-[[2-methoxy-5-((phenylamino)carbonyl)phenyl] azo]	Organik, Azo
Pigment Kırmızı 5	N-(5-Kloro-2,4-dimethoksifenil)-4-[[5-[(dietilamino)sülfonil]-2-metoksifenil]azo]-3-hidroksinaftalen-2-karboksamit	Organik, Azo
Pigment Kahverengi 25	4-[2-(2,5-Dichlorophenyl)diazenyl]-N-(2,3-dihydro-2-oxo-1H-benzimidazol-5-yl)-3-hydroxy-2-naphthalenecarboxamide	Organik, Azo
Pigment Sarı 151	2-[[1-[(2,3-Dihydro-2-oxo-1H-benzimidazol-5-yl)amino]carbonyl]-2-oxopropyl]azo]benzoic acid	Organik, Azo
Gıda Kırmızı 17	Disodyum 6-hidroksi-5-[(2-metoksi-4-sulfonato-mtolil)azo]naftalen-2-sülfonat	Organik, Azo
Pigment Sarı 14	Butanamide, 2,2'-[(3,3'-dichloro[1,1'-biphenyl]-4,4'-diyl)bis(azo)]bis[N-(2-methylphenyl)- 3-oxo-	Organik, Azo
Pigment Sarı 83	2,2'-[(3,3'-Dikloro[1,1'-bifenil]-4,4'-diil)bis(azo)]bis[N-(4-kloro-2,5-dimetoksifenil)-3-oksobütiramit]	Organik, Azo
Gıda Mavi 2	Benzen-metanaminyum, N-etil-N-(4-((4-(etil((3-sülfofenil)metil)amino) fenil)(2-sülfofenil)metilen)-2,5-sikloheksadien-1-iliden)-3-sülfo-, hidroksit, iç tuzu, disodyum tuzu	Organik, Polisiklik
Asit Kırmızı 87	Disodyum 2-(2,4,5,7-tetrabromo-6-oksido-3-oksoksanten-9-il)benzoat	Organik, Polisiklik
Gıda Sarı 13	1H-İnden-1,3(2H)-dion, 2-(2-kinolinil)-, sülfonlu,	Organik, Polisiklik

	sodyum tuzları	
Pigment Mor 19	8,18-Dikloro-5,15-dietil-5,15-dihidroindolo[3,2-b:3',2'-m]trifenodioksazin	Organik, Polisiklik
Pigment Turuncu 43	Bisbenzimidazo[2,1-b:2',1'-i]benzo[Imn][3,8]fenantrolin-8,17-dion	Organik, Polisiklik
Pigment Mor 23	5,12-Dihidrokinol[2,3-b]akridin-7,14-dion	Organik, Polisiklik
Pigment Kırmızı 122	5,12-Dihidro-2,9-dimetilkinol[2,3-b]akridin-7,14-dion	Organik, Polisiklik
Pigment Mavi 15	29H,31H-Fitalosiyanimato(2-)-N29,N30,N31,N32 bakır	Organik, Polisiklik
Pigment Yeşil 7	Polikloro bakır fitalosiyanim	Organik, Polisiklik
Pigment Yeşil 36	1,3,8,16,18,24-Hekzabromo-2,4,9,10,11,15,17,22,23,25-dekloro-29H,31H-ftalosiyanimato(2-)-N29,N30,N31,N32)bakır	Organik, Polisiklik
Heliogen Yeşil B	İndol-5-karboksilik asit	Organik, Polisiklik
Pigment Siyah 6 ve 7 (grafit)	Karbon siyahı	Karbon siyahı
Jernoksit	Demir oksit	İnorganik
Pigment Kahverengi 6 ve 7 Pigment Kırmızı 101 ve 102	Demir oksit kırmızısı	İnorganik
Pigment Kahverengi 6 ve 7 Pigment Sarı 42 ve 43	Demir oksit sarısı	İnorganik
Pigment Kahverengi 6	Demir oksit siyahı	İnorganik
Pigment Sarı 42	Amonyum mangan (3+) difosfat	İnorganik
Pigment Beyaz 6	Titanyum dioksit	İnorganik

A-İnorganik Pigmentler

Dövme boya larında inorganik pigment olarak titanyum dioksit, demir oksit ve krom oksit yeşil kullanılır. İnorganik pigmentler ağır metal safsızlıkları içermektedirler.

Nikel, krom, bakır ve kobalta demir oksit pigmentlerinde sıklıkla rastlanılmaktadır. Ancak bu safsızlıklar beklendiği kadar çok alerjik reaksiyonlara sebebiyet vermemektedir

Titanyum Dioksit

Titanyum dioksit pigmentleri çok az oranda absorbe olma özelliği ve yapısal olarak gelen beyaz ışığı değiştirmeden ve yüksek oranda yansıtma gücünden ötürü sıklıkla kullanılmaktadırlar. Titanyum dioksit pigmentleri tüm beyaz renklerde yüksek kırılma indisine sahiptir (Şekil 2.4). Bu sebeple açık renklerde kullanıma çok müsaittir. Titanyum dioksitin bilinen üç kristal tipi vardır: brookit, rutil ve anatas. Brookit yüksek fotokimyasal aktivitesi sebebi ile dövme boylarında kullanılmamaktadır. Rutil sıklıkla dövme boylarında kullanılır. Anatasın kullanımı ise yaygın değildir.



Şekil 2.4: Titanyum dioksitin fiziksel görünümü-(T.C. Millî Eğitim Bakanlığı 2013 pp. 27)

Demir Oksit

Demir oksitler dövme boylarında opak, donuk ve mat bir renk elde edilmesi için kullanılmaktadır. En sık kullanılan demir oksitler sarı, kırmızı ve kahverengi demir oksitlerdir (Şekil 2.5).



Şekil 2.5: Demir (III) oksit ve Demir oksit sarısı ($\text{Fe}_2\text{O}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$)'nın fiziksel görünümüleri-(T.C. Millî Eğitim Bakanlığı 2013 pp. 31-32)

Krom Oksit Yeşil

Krom oksit yeşil (Cr_2O_3) ve krom oksit hidrat yeşil ($\text{Cr}_2\text{O}_3 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$) dövme boylarında kullanılmaktadır (Şekil 2.6). Üretim sırasında, altı değerli krom üç değerli kroma indirgenir.



Şekil 2.6: Krom oksit yeşil (Cr_2O_3)'in fiziksel görünümü (Luoyang Zhengjie Science&Technology Industry Trade Co. Ltd. 2019)

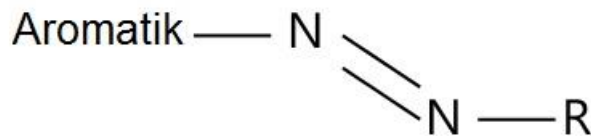
B- Organik Pigmentler

Organik pigmentler inorganik pigmentler ile kıyaslandığında çok daha parlak ve çok daha geniş bir renk skalası elde edilmesini sağlar. Ancak dispersiyon özellikleri inorganik pigmentlerden daha kötüdür. Yapılarından dolayı organik pigmentler inorganik pigmentlerden daha az safsızlık içerirler. Ağır metallere ileri gelen safsızlıklar inorganik pigmentlere nazaran oldukça azdır. Ancak üretim süreçlerinden dolayı aromatik amin kalıntıları söz konusu olabilmektedir (Dirks 2015).

Organik pigmentler azo ve polisiklik pigmentler olmak üzere ikiye ayrılır.

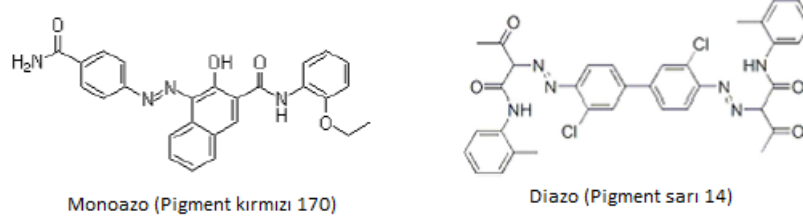
Azo Pigmentler

Azo pigmentler, sp^2 -hibridize C atomuna $-\text{N}=\text{N}-$ azo grubunun bağlı olduğu bileşiklerdir. Genelyapıları Şekil 2.7'de gösterilmiştir.



Şekil 2.7: Azo pigmentlerin yapısal gösterimi-(Dirks 2015).

Azo pigmentlerin üretimleri kolay ve ucuzdur (Cuyper ve Cotapos 2010). Azo pigmentler primer aromatik aminlerin diazolama reaksiyonu sonucunda diğer aromatik bileşiklere azo bağı ile bağlanmasıyla elde edilirler (Şekil 2.8).



Şekil 2.8: Monoazo ve Diazo pigmentlere örnekler-(Dirks 2015).

Alifatik azo bileşiklerinin renk şiddetleri düşük olduğu için azo pigment üretiminde sıklıkla kullanılmazlar.

Azo boyalar sarı, kırmızı, yeşil, mavi, mor, siyah ve kahverengi gibi çeşitli renklere sahiptir. Renk ile azo boyaların yapısı arasında sıkı bir ilişki vardır. Azo boyaların renklerinin çeşitli olmasının sebebi bileşiğin türüne göre renkliliği sağlayan azo yapıların farklı sayıda olması ve bu azo yapıların boya molekülü üzerinde farklı yerlerde bulunmasıdır. Moleküldeki azo grubu sayısı arttıkça renk koyulaşır (Kabay 2002).

Polisiklik Pigmentler

Polisiklik pigmentler tek tip bir pigment sınıfı değildir. Azo grup içermeyen pigmentlere verilen ortak bir isimdir. Polisiklik pigmentlere örnek olarak fitalosiyanın, perilen, perinon, dioksazin pigmentleri verilebilir (Dirks 2015).

İnorganik pigmentler ile organik pigmentler arasındaki farklar Tablo 2.3'de verilmektedir.

Tablo 2.3: İnorganik ve organik pigmentlerin karşılaştırılması-(Kabay 2002)

İnorganik Pigmentler	Organik Pigmentler
Ucuzdur.	Pahalıdır.
Kolay ıslanır.	Zor ıslanır. Pigmentlerin daha zor ıslanmaları dispersiyonun daha yavaş ve daha zor olmasına sebep olur. Bunun sonucunda pigmentte çökme, viskozitenin yükselmesi ve daha düşük parlak gözlemlenir.
Mat renkler elde edilir.	Parlak renkler elde edilir.
Renklendirme kuvvetleri organik pigmentlere göre daha düşüktür.	Renklendirme kuvvetleri yüksektir.
Örtücü gücü yüksektir.	Örtücü gücü düşüktür.
Partikül büyüklükleri organik pigmentlere göre daha fazladır.	Partikül büyüklükleri daha düşüktür.
Yağ absorpsiyonları düşüktür.	Yağ absorpsiyonu yüksektir.

C- Karbon Siyahı

Karbon siyahı dövme boyalarında kullanıma en uygun pigmenttir (Şekil 2.9). Üretim süreçlerine bağlı olarak farklı boyutlarda karbon siyahı pigmentleri elde edilirler. Bu farklı boyut değişik dispersiyon özelliklerinde karbon siyahı elde edilmesi anlamına gelmektedir (Dirks 2015).



Şekil 2.9: Karbon siyahının fiziksel görünümü-(T.C. Millî Eğitim Bakanlığı 2013 pp. 35)

Üretim sürecine bağlı olarak karbon siyahı safsızlık olarak polisiklik aromatik hidrokarbonlar (PAH'lar) içerebilmektedir (Dirks 2015).

2.2.2. Dolgu Maddeleri

Dolgu maddeleri genellikle farklı kimyasal bileşime ve fiziksel özelliklere sahip inorganik maddelerden oluşur. Üç boyutlu yapıları sayesinde dövme boya boyalarının yapılarındaki boşlukları doldurarak dövme boya boyalarını daha stabil bir hale getirirler, boya maliyetini düşürürler ve boyanın örtücülüğünü arttırlar. En çok kullanılan dolgu maddeleri baryum sülfat ve silikadır (Dirks 2015).

İki değişik tipte baryum sülfat vardır. İlki doğal olarak oluşur ve barit olarak adlandırılır. Diğeri sentetik olarak üretilir ve yapay baryum sülfat (blanc fixe) olarak adlandırılır. Yapay baryum sülfat safsızlık içermez ve baryumun çözünürlüğü ile alakalı yasal düzenlemelere uygun olarak üretilmektedir. Baryum sülfat organik pigmentler için flokülasyon yardımcısı olarak kullanılır. Baryum sülfat kullanılarak yapılan flokülasyon işlemleri dispersiyon gibi üretim özelliklerini optimize eder (Dirks 2015).

2.2.3. Çözücüler

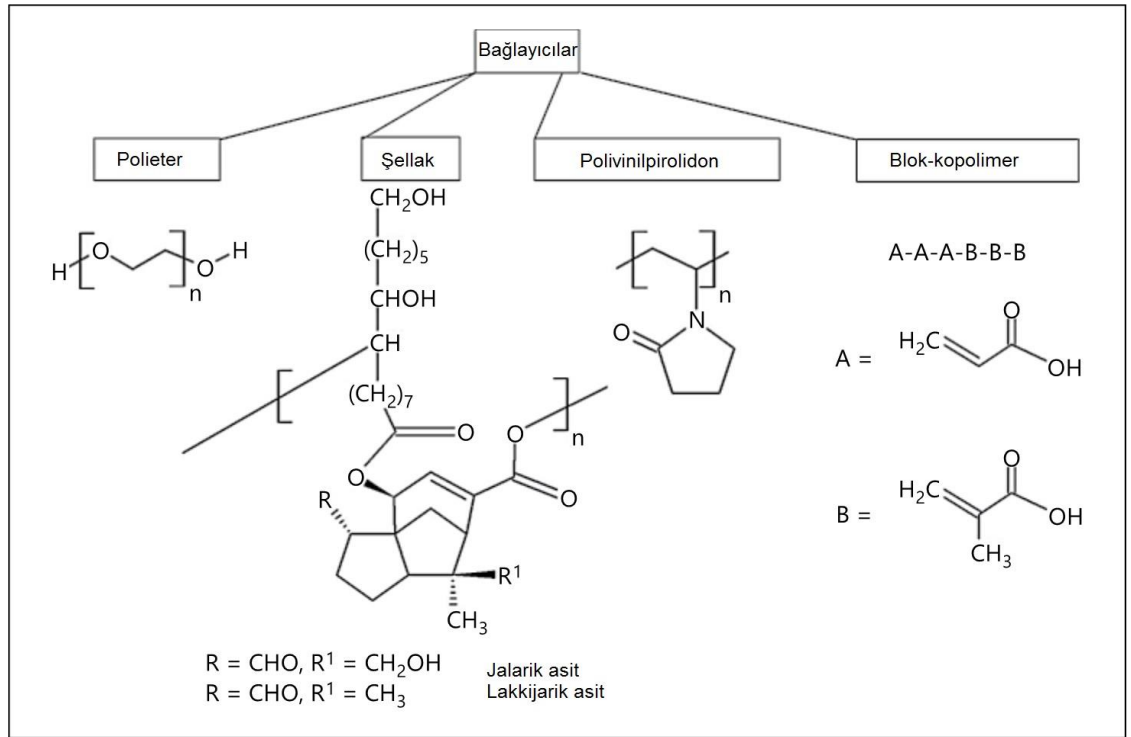
Çözücüler pigmentlerin süspansiyon haline getirilmesi için kullanılan maddelerdir (Tablo 2.4). Su dövme boya boyalarında kullanılan ana çözücü maddedir. Suyun haricinde basit alkoller ve çok değerlikli alkoller çözücü olarak kullanılmaktadır. Suyun haricinde diğeri çözücü maddelerin kullanım miktarları, maddelerin ciltte iritasyona sebep olma potansiyelleri göz önüne alınarak limitlidir (Dirks 2015).

Tablo 2.4: Dövme boyalarında kullanılan çözücülerin kullanım amaçları-(Dirks 2015).

Çözücü	Kullanım amacı
Su	Bağlayıcı maddelerin çözünmesini sağlar.
Etanol	Kuruma özelliğini ayarlar, kokuyu maskeler.
İzopropil alkol	Kuruma özelliğini ayarlar, kokuyu maskeler.
Gliserin	Viskoziteyi artırır, hümektandır.
Propilen glikol	Hümektan özellik gösterir. Dağılılılığı artırır.

2.2.4. Bağlayıcılar

Bağlayıcı maddeler uçucu olmayan ve suda çözünen maddelerdir. Bağlayıcı maddeler pigment partiküllerinin birbirlerine ve dövme iğnesine tutunmasını sağlayarak cilde dövme uygulamasının yapılabilmesini kolaylaştırır. Yüksek molekül ağırlıklarından ötürü bağlayıcıların biyo-yararlanımları kısıtlı olup akut zararlılık görülmemektedir. Bağlayıcı olarak kullanılan maddeler Şekil 2.10'da gösterilmiştir.



Şekil 2.10: Bağlayıcı maddelerin şematik olarak gösterilmesi-(Dirks 2015).

2.2.5. Katkı Maddeleri

Katkı maddeleri dövme boyalarında raf ömrünün uzatılması, mikrobiyal bozulmalara karşı koruma, viskozite kontrolü gibi değişik sebeplerle kullanılan ve toplam konsantrasyonu %5'i geçmeyen maddelerdir (Dirks 2015).

Yüzey Aktif Maddeler

Yüzey aktif maddeler dövme boyalarının daha iyi dağılmasına, üretim sırasında daha stabil olmasına ve raf ömrünün uzamasına yardımcı olan maddelerdir. Pigment moleküllerinin çekim gücü kohezyona sebep olur. Kohezyon sonucunda pigmentler belirli hacimle en küçük yüzeye sahip olurlar. Bu özellik yüzey gerilimi olarak bilinir. Yüzey gerilimi pigmentlerin formüldeki diğer hammaddeler ile etkileşime girerek bazı problemlerin ortaya çıkmasına neden olur. Disperse olmuş pigmentler aglomerasyon sonucu daha büyük yapılar oluştururlar. Eğer yüzey gerilimi ayarlanmazsa aglomerasyon sonucu oluşan büyük yapılar çözücü içerisinde ıslanmaya karşı direnç gösterirler. Yüzey aktif maddeler yüzey geriliminin ayarlanmasına yardımcı olarak pigmentlerin daha iyi disperse olmasını sağlar (Dirks 2015).

Viskozite Arttırıcı Maddeler

Dövme boyalarında raf ömrü süresince topaklanma ve buna bağlı olarak sedimentasyon oluşmunun önüne geçilmesinin tek yolu viskozitenin ve tiksotropinin arttırılmasıdır. Silika gibi tiksotropiyi arttırıcı maddeler dövme boyalarına stabilizeyi sağlamak için eklenirler (Dirks 2015).

Koruyucular

Dövme boyaları yüksek miktarda su içeriği sebebiyle mikrobiyal bozulmaya çok yatkındırlar (Dirks 2015). Danimarka’da yapılan bir çalışmada incelenen dövme boyalarının %10’unda patojen bakteriye rastlanmıştır (Serup ve ark. 2015). Bu sebeple korunmaları gerekmektedir. Koruyucular dövme boyalarını mikrobiyal bozulmalara karşı koruyan maddelerdir (Dirks 2015).

Dövme boyalarında kullanılan koruyucular genelde kozmetik ürünler kullanımı yasal düzenlemeler ile düzenlenmiş koruyucu maddelerdir. Sıklıkla kullanılan koruyucular; benzoik asit, dehidroasetik asit, formaldehit, fenoksietanol, salisilik asit ve sorbik asittir. Koruyucu kullanımı alerjik reaksiyon riskini arttırmaktadır. Koruyucu kullanımının azaltılması ve mümkünse kullanımdan kaçınılması gerekmektedir.

2.3. Dövme Boyaları İle Alakalı Yasal Düzenlemeler

Türkiye’de Dövme Boyaları İle Alakalı Yasal Düzenlemeler

Türkiye’de dövme uygulayıcılığı, dövme stüdyoları ve dövme uygulaması yaparken kullanılan araç gereçler için yasal düzenlemeler bulunmasına karşın dövme boyaları ile alakalı yasal bir düzenleme bulunmamaktadır. Dövme boyası üretimi ülkemizde yapılmamaktadır. Dövme boyaları ülkemize ithal edilmektedir. İthalatı yapılan dövme boyaları gümrüğe GTİP 32 gümrük tarife kodu ile gelmektedir (Gümrük Tarife İstatistik Pozisyonu 2019). Gümrüğe geldikten sonra kimyanede fizikokimyasal analizler yapılmak üzere numune gönderilir. Kimyanede yapılan fizikokimyasal testlerin sonucunda gümrükten mal çekimi yapılmaktadır.

Diğer Ülkelerde Dövme Boyaları İle Alakalı Yasal Düzenlemeler

Avrupa’da dövme boyalarının düzenlenmesini sağlayan spesifik bir yasa bulunmamasına rağmen 2008 yılında yayınlanan bir yasa tasarısı bulunmaktadır. Bu yasa tasarısı CoE ResAP(2008)1 olarak isimlendirilmiştir. CoE ResAP (2008)1 dövme

boyalarının içermemesi gerekenlerin listesi, dövme boyalarının içermesine izin verilen boyar maddelerin listesi, dövme boyalarının ambalajlarında uyulması gereken kurallar, dövme boyalarının içerebileceği ağır metal limitleri hakkında bilgiler içermektedir. (ResAP(2008)1 2008; Piccinini ve ark. 2014)

Avrupa Birliği (AB) üyesi ülkeler büyük çoğunlukla CoE ResAP (2008)1'i takip ederler. Bununla beraber her ülke kendi otoritelerinin belirlemiş olduğu başka bazı düzenlemeleri de uygulayabilmektedir. CoE ResAP (2008)1'i takip etmeyen AB üyesi ülkeler de bulunmaktadır. (ResAP(2008)1 2008; ResAP(2003)2 2003; Piccinini ve ark. 2014)

Belçika'da, Fransa'da, Almanya'da ve Hollanda'da CoE ResAP(2003)2'yi temel alan belirli yasal düzenlemeler uygulanmaktadır. İspanya'da, Slovenya'da ve İsveç'te ise CoE ResAP(2008)1'deki prensipler kullanılmaktadırlar. 2013 yılında Fransa, CoE ResAP(2008)1 tavsiyeleri uyarınca CMR maddelerin ve cilt için hassaslaştırıcı kategori 1A ve kategori 1B (H317) maddelerin dövme boyalarında kullanılmasını yasaklamış ve yasaklanmış maddeleri içeren listeyi güncellemiştir. (ResAP(2008)1 2008; ResAP(2003)2 2003; Piccinini ve ark. 2014)

Avusturya'nın, Danimarka'nın ve Letonya'nın CoE ResAP (2008) 1 temel alınarak oluşturulmuş ve beklemekte olan bir mevzuat taslağı vardır. (Piccinini ve ark. 2016)

İtalya, Malta, Romanya, Çek Cumhuriyeti, Finlandiya ve Slovakya sadece dövme uygulamalarını ve dövme uygulaması yapılırken gerekli olan sağlık ve hijyen kurallarını düzenlemektedir. Malta, Romanya, Çek Cumhuriyeti, Finlandiya CoE ResAP'ı yasal düzenlemelerine almamaktadırlar. Slovakya'da ve İtalya'da Halk Sağlık Yetkilileri RAPEX sistemi çerçevesinde ResAP(2008)1'de belirtilmiş olan önerilere ve limitlere göre dövme boyalarının piyasa gözetimi yapmaktadırlar.

Hırvatistan, Kıbrıs, Yunanistan, İrlanda ve Polonya dövme faaliyetleri konusunda belirli bir yasal metine sahip değildir; ancak REACH, CLP ve GPSD tüzüklerini referans almaktadırlar (Piccinini ve ark. 2016).

Bulgaristan, Estonya, Portekiz ve Lüksemburg belli bir mevzuata sahip değildir. Lüksemburg, Fransız mevzuatından ilham alarak dövme stüdyolarındaki hijyen gerekliliklerinin yerine getirilmesi için bir düzenleme yapmak üzeredir (Piccinini ve ark. 2016).

Fransa dövme için ulusal bir teyakkuz sistemi kurmuştur, Almanya ve İtalya ise denetim / izleme aktiviteleri ile hijyen / sıhhi şartlara ve mevzuatlara uygunluğu takip etmektedir. Avusturya, Fransa, Romanya ve Hollanda gibi ülkelerde istenmeyen etkilerin rapor edildiği bir sistem de mevcuttur (Piccinini ve ark. 2016).

Amerika'da dövme boyaları ve pigmentlerinin üretimi ile alakalı herhangi bir yasal düzenleme, yayınlanmış kılavuz veya standart bulunmamaktadır. Dövme boyaları ve pigmentler kozmetik olarak sınıflandırılmaktadır ve pazara sürülmeden önce düzenlemeye tabi tutulmazlar (Haugh ve ark. 2015). Bu bağlamda Amerika Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) deri altı boyalarında kullanılan boya ve pigmentlerin üretimini düzenleme hakkına sahiptir, ama rekabetçi sağlık öncelikleri ve özellikle bu pigmentlerle ilgili olarak pigmentlerin sağlık problemlerine yol açacakları hususunda yeterli kanıt olmadığı için düzenleme yapmamayı tercih etmektedir. Dövme boyalarının ve pigmentlerin kozmetik ürünlerde kullanılmasına izin verilen boyar maddeleri içermesi beklenmektedir. İstenmeyen/ciddi istenmeyen etki bildirimleri FDA tarafından kayıt altına alınmaktadır (Haugh ve ark. 2015). FDA bir problem ile karşılaştığında, dövme boyası tedarikçileri ile problemleri boyaların piyasadan toplatılmasını sağlamak için ortak çalışmaktadır. Bireylerin dövme boyaları konusunda problem yaşamaları durumunda kendilerine mail ya da telefon yolu ile ulaşmalarını ve durumu bildirmelerini istemektedir (FDA 2019). Dövme sanatçıları ve uygulamaları hakkında bazı yasal düzenlemeler mevcuttur. Bu yasal düzenlemeler FDA'nın herhangi bir rolü bulunmamaktadır. Ayrıca bu yasal düzenlemelerde eyaletler arası farklılıklar gözlenmektedir (Haugh ve ark. 2015).

Yeni Zellanda, Avrupa dışında CoE ResAP(2008)1'i uygulayan tek ülkedir. Dövme ve kalıcı makyaj ürünlerinin içerdikleri kimyasalların potansiyel sağlık risklerini tartışmak için dövme ve kalıcı makyaj maddeleri grubu standartı kurulmuş ve bu standartın uygulanması Çevre Koruma Kurumunun (NZ-EPA) görevi olarak tanımlanmıştır. Yeni Zellanda yetkilileri dövme boyalarında yer almaması gereken 27 aromatik amin ve 35 renklendirici maddenin listesini oluşturmuşlardır (Piccinini ve ark. 2016).

Avustralya'da, New South Wales, Queensland, Tazmania gibi farklı yerlerde yetkiler her bölgenin halk sağlık bölümlerine verilmiş olup, kendi uygulamalarını ve

standartlarını düzenlemektedir. Bu durum da geniş çaplı prosedürlere yol açmaktadır (Piccinini ve ark. 2016).

Kanada'da merkezi düzeyde belirli bir mevzuat bulunmamaktadır. Bununla birlikte, British Columbia, Ontario, Quebec gibi her eyalet makamı Bireysel Hizmetler Kuruluşlarını (PSEs) yöneten sağlık kılavuzunu düzenler ve kılavuzun uygulanmasını sağlar (Piccinini ve ark. 2016).

Japonya'da tüketici ürünlerinin içinde yer alan endüstriyel kimyasallar katı pazarlama ve kullanım kısıtlamalarına maruz kalmaktadır; ancak dövme boyları ve dövme stüdyoları belli bir mevzuata bağlı değildir (Piccinini ve ark. 2016).

2.4. Fototoksisite

Fototoksisite, ışıktan kaynaklanan doku reaksiyonlarını tanımlamakta olup organizmaya uygulanan bir maddeye ışığa maruziyet sonrasında derinin toksik cevabıdır.

Fototoksisite kimyasal bir maddeye organizmanın sistemik veya topikal olarak maruz kalmasının ardından ışıkla temas etmesi sonucunda akut olarak ortaya çıkar. Fototoksisitenin belirtileri olarak deride ödem, iritasyon deri yanıkları ve kaşıntı gözlenir (Köse ve ark. 2017).

Fototoksik reaksiyonlar erken tip ve geç tip fototoksik reaksiyonlar olmak üzere ikiye ayrılır. Erken tip fototoksik reaksiyonlarda oksijenin varlığı ile kimyasal madde oksidasyona ve redüksiyona uğrar. Bunun sonucunda hücre yıkımı olur. Fototoksik etki belirtileri kontakten maddenin temas ettiği alan ile sınırlı kalır. Işığın etki etmesini takiben 2 ila 6 saat sonra maruz kalan kişide batma, yanma, eritem, ödem gibi fototoksik belirtiler gözlenir. Bu belirtiler 24 saat içerisinde en şiddetli hale gelir. Genelde hafif belirtiler 2-3 gün içerisinde iyileşirken, daha ciddi belirtiler daha geç sürede iyileşir (Ankara Üniversitesi 2019).

Geç tip fototoksik reaksiyonlar 320-400 nm dalgo boylarındaki UV ışınları ile meydana gelirler ve oksijene gereksinim duymazlar. Fototoksisite belirtileri ışıkla teması takiben 6-12 saat sonra başlar. 48 saat sonra en şiddetli hale gelir. Fototoksik etki belirtileri kontakten maddenin temas ettiği alan ile sınırlı kalır. Meydana gelen lezyonlar 7-14 gün içerisinde iyileşir (Ankara Üniversitesi 2019).

Fototoksik reaksiyonların ana özellikleri Tablo 2.5'de belirtilmiştir:

Tablo 2.5: Fototoksik reaksiyonların ana özellikleri-(Mang ve ark. 2011).

Fototoksiste	
İnsidans	Yüksek
Patofizyoloji	Doku hasarı
Etken maddenin gereken dozu	Yüksek
Işığın gereken dozu	Yüksek
Işığa maruziyet sonrası istenmeyen etkinin başlangıç zamanı	Dakikadan saate
Klinik görünüm	Güneş yanığı görünümü
Tek maruziyet sonrası reaksiyon	Evet
Lokalizasyon	Yalnızca maruziyet olan alanda
Pigmentasyon değişiklikleri	Sık
Histoloji	Epidermal hücre bozulması, dermal ödem ve vazodilatasyon; seyrek dermal mononükleer infiltrat

Aşağıda sıralanan özelliklere sahip olan kimyasal maddenin fototoksiste oluşturmada potansiyeli yüksektir:

- 290-700 nm (doğal güneş ışığı) aralığında ışığı absorplaması
- UV-görünür ışığın absorpsiyonu sonrası reaktif türler oluşturması
- Deri ve göz gibi ışığa maruz kalan dokularda dağılabilmesi (Köse ve ark. 2017).

2.4.1. Fototoksistenin Mekanizması

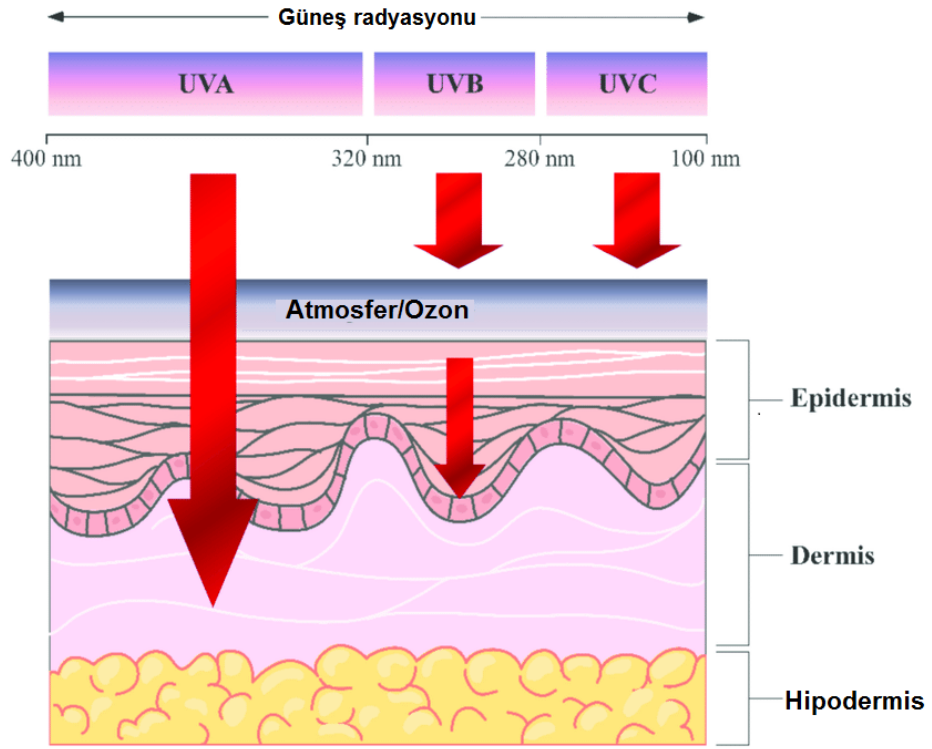
Biradikal olarak değerlendirilen moleküler oksijen (O_2), paralel spin durumlu iki ortaklanmamış elektrona sahiptir. Biradikal oksijen, serbest radikallerle kolayca reaksiyona girer. Biradikal oksijenin elektronlarından biri enerji alarak kendi spininin ters yönünde olan başka bir orbitale yer değiştirir. Bunun sonucunda reaktif bir oksijen molekülü olan singlet oksijen (1O_2) oluşur. Moleküler oksijen yüksek derecede reaktif oksijen türleri (ROS) oluşturma eğilimindedir. Süperoksit radikali (O_2^-), hidrojen peroksit (H_2O_2) ve hidroksil radikali (OH^\bullet) sıklıkla oluşan reaktif oksijen türlerindedir (ROS). ROS'lar çeşitli serbest radikallerin olduğu serbest radikal zincir reaksiyonlarını başlatabilirler ve hücrede karbon merkezli organik radikaller (R^\bullet), tiyil radikalleri (RS^\bullet), sülfenil radikalleri (RSO^\bullet), tiyil peroksit radikalleri (RSO_2^\bullet) alkoksi radikalleri (RO^\bullet), peroksit radikalleri (ROO^\bullet), tiyil radikalleri (RS^\bullet), sülfenil radikalleri (RSO^\bullet), tiyil peroksit radikalleri (RSO_2^\bullet) gibi değişik serbest radikallerin oluşumuna neden olurlar (Smith ve ark. 2004 pp 439-443).

Fototoksisitenin meydana gelmesi için fotonların kromofor veya fotohassaslaştırıcı bir molekül tarafından absorbe edilmesi gerekir (Mang ve ark. 2011).

Serbest oksijen oluşumuna sebep olan ROS'lar ciltte doğal olarak bulunurlar ve endojen fotohassaslaştırıcı olarak isimlendirilirler. Organizma kendi doğal enzimatik savunma mekanizması ile ROS'ların seviyesini kontrol altında tutar. Ancak bazı dövme pigmentleri ROS'ların üretimini artırır. Bunun sonucunda ciltte ödem, yanma ve ağrı gibi semptomlar oluşur.

Özellikle siyah pigmentler birden fazla aromatik bileşen içerebilmektedir. Bu durum UV ışın ile maruziyette singlet oksijen oluşumuna sebebiyet vermektedir (Serup ve ark. 2015).

Güneş ışığı, 290-3000 nm dalga boyundaki ışımalarından oluşmakta ve çeşitli yoğunlukta enerji dalgaları yaymaktadır. 290 nm'den daha kısa dalga boyundaki ışınmalar ozon tabakası ve stratosferdeki moleküler oksijen tarafından absorbe edilirler ve dünya yüzeyine ulaşmazlar. Dünya yüzeyine ulaşan güneş ışını 290-400 nm'de UV bölgesi, 400-760 nm'de görünür ışık ve 760 nm'den daha uzun dalga boyuna sahip infrared ışına olarak üçe ayrılır. Gelen ışığın dalga boyu, penetrasyonun enerjisi ve miktarını değiştirir. UVA ve UVB gibi kısa dalga boylu ışınlar fototoksisite oluşturur. Fototoksisite güneş ışığı ve fotoreaktif kimyasal maddelerin birlikte oluşturdukları etki ile meydana gelir. UVA (320-400 nm) UV'nin %90-92'sini oluşturur. UVA ışınları derinin alt tabakası olan dermise kadar geçer. Meydana gelen fototoksisite reaksiyonlarının şiddeti derideki melanin pigmenti miktarına ve UVA ışınlarının dozuna bağlı olarak değişir. Güneş yanığından asıl sorumlu olan 290-320 nm dalga boyu ile UVB'dir. UVB melanin pigmentinin sentezini stimüle eder, serbest radikal oluşumunun deride artmasına sebep olur. Serbest radikal oluşumu hücre ve dokularda yıkımlara sebep olur. Bunun sonucunda ağrı ve inflamasyon gözlemlenir. UVB fototoksik reaksiyonlardan sorumlu değildir (Şekil 2.11) (Köse ve ark. 2017).



Şekil 2.11: Güneş ışınlarının deriden geçişi-(Pérez-Sánchez ve ark. 2018)

2.4.2. Fototoksisite Test Yöntemleri

Fototoksisitenin belirlenmesi için kullanılan test yöntemleri in vivo, in vitro, in silico ve in chemico test yöntemleri olarak dörde ayrılmaktadır. In vivo çalışmalar guinea pig, fare ve rat kullanılarak yapılır. In vitro testlere 3T3 NRU testi ve 3D epidermis modeli kullanılarak uygulanır. In chemico test yöntemi ise ROS üretimi ile yapılmaktadır (Kim ve ark. 2015).

In Vivo Fototoksisite Testleri

In vivo fototoksisite testleri fare, sıçan, kobay ve tavşan kullanılarak fototoksik deri reaksiyonlarının belirlenmesini sağlamaktadır. Hayvanlara sistemik veya topikal olarak test maddesi uygulanır. Ardından hayvanlar uygun dozda UVA'ya maruz bırakılır. 72 saat boyunca ödem ve irritasyon oluşumu takip edilerek 0-4 arasında skorlanır. Maksimum skorun hayvan başına ortalaması alınır ve fototoksisite indeksi şu formül ile hesaplanır:

Fototoksisite indeksi = UVA ışınıyla oluşturulmuş irritasyon indeksi – ışınlama olmayan irritasyon indeksi

Fototoksisite indeksi >0.6 ise test maddesi potansiyel fototoksiktir. (Köse ve ark. 2017)

In Vitro Fototoksisite Testleri

In vitro metotları hayvan test modellerinin yerine sıklıkla ve gün geçtikçe artarak kullanılmaktadırlar. 3T3 nötral kırmızı alım (NRU) fototoksisite testi ve 3D insan epidermis modeli en çok kullanılan in vitro fototoksisite test metotlarıdır (Kim ve ark. 2014). Tez çalışmasında 3T3 NRU Fototoksisite Test yöntemini kullanıldı. Bu sebeple 3T3 NRU Fototoksisite Test yöntemini ayrıntılı olarak Bölüm 2.5.'de anlatıldı.

In Silico Test Yöntemleri

In silico yöntemler bilgisayar temelli yöntemlerdir. Kimyasalların kantitatif yapıları ile akiviteleri arasındaki ilişkinin (QSAR) bilgisayar ortamında değerlendirilmesi esasına dayanır. Kimyasal maddelerin fototoksisite oluşturma potansiyellerinin değerlendirilmesi oldukça karmaşık bir konudur. Bu sebeple kimyasal maddelerin sebep olduğu fototoksisiteyi öngörebilmek ve değerlendirebilmek için kullanılabilen programlar sınırlıdır. Öte yandan florokinolonlar gibi bazı özel kimyasal yapılara sahip maddelerin fototoksisite potansiyellerinin değerlendirilmesi için in silico yöntemler geliştirilmektedir (Todorov 2014).

In Chemico Test Yöntemleri

Cilt hassasiyetinin ölçülmesi için kullanılan in chemico test yöntemi Direkt Peptit Reaktivite Analizi (DPRA)'dir. DPRA proteinlerin reaktivitesinin cilt hassasiyeti oluşturma ile ilişkisinin incelenmesine dayanır. OECD tarafından 2015 yılında kabul edilmiştir (OECD/OCDE TG 442C).

2.5. 3T3 NRU Fototoksisite Testi

2.5.1. 3T3 NRU Fototoksisite Testinin Tanımlanması

3T3 NRU Fototoksisite testi test maddesinin ışığa maruz kalmasından sonra fototoksik etki oluşturma potansiyelinin belirlendiği in vitro test metodudur. Test, ışığın varlığında kimyasal maddeye maruz kalan hücrelerin yaşayabilirliğinde azalma olup olmadığını tespit ederek foto-sitotoksisitenin değerlendirilmesini sağlar. Test edilen maddeler çıkan sonuçlara göre in vivo fototoksik veya fototoksik değil olarak değerlendirilir (OECD/OCDE 432 2004).

3T3 NRU Fototoksisite Testi insanlar ve hayvanlardaki in vivo akut fototoksisite etkilerinin belirlenmesini sağlar; fotogenotoksisite, fotoalerji, fotokarsinojenite gibi diğer istenmeyen etkilerin oluşma potansiyelleri hakkında herhangi bir bilgi vermez. Ayrıca fototoksisitenin dolaylı mekanizmaları hakkında ve test maddesinin metabolitlerinin etkileri veya karışımların etkileri hakkında da bilgi vermez (OECD/OCDE 432 2004).

2.5.2. 3T3 NRU Fototoksisite Testinin Prensipleri

3T3 NRU Fototoksisite Testi, test maddesinin simüle edilmiş güneş ışığının sitotoksik olmayan bir dozuna maruz kalması ve kalmaması durumundaki sitotoksisitesinin karşılaştırılması esasına dayanmaktadır. Testte hücrelere test maddesine ve ışına maruz kaldıktan 24 saat sonra zayıf katyonik bir boya olan nötral kırmızısı boyası (NR) uygulanır. Bu boya canlı hücreler tarafından hücre membranlarından penetrasyon yoluyla intraselüler ortamlarına alınır ve lizozomlarında birikir. Hücrelerin test maddesine ve sitotoksik olmayan dozda ışına maruz kalmasını takiben hücreler tarafından nötral kırmızısı boyasının alımının madde konsantrasyonuna bağlı olarak azalması sitotoksisite şeklinde ifade edilir. Lizozomların membranları son derece hassas bir yapıya sahiptir ve hücre yüzeyindeki değişiklikler geri dönüşü olmayan lizozomal kırılmalara sebep olur. Ksenobiyotiklerin etkisi ile ortaya çıkan bu değişiklikler, nötral kırmızı boyasının azalması ve bağlanması ile sonuçlanır. Böylece bu testin temeli olan canlı, hasarlı ve ölü hücreler arasında ayırım yapmak mümkün olur.

3T3 NRU Fototoksisite testinde fare fibroblastı Balb/c 3T3 hücreleri kullanılır. İki adet 96-kuyulu plaka hazırlanır. Birinci plakada Balb/c 3T3 hücreleri test maddesine maruz bırakıldıktan sonra 50 dakika boyunca 5 j/cm^2 dozunda UVA'ya maruz bırakılır (+UV deneyi). İkinci plakada ise Balb/c 3T3 hücreleri test maddesine maruz bırakıldıktan sonra karanlıkta bekletilir (-UV deneyi). Her iki plaka da medyumları değiştirildikten sonra 24 saatlik inkübasyona bırakılır. İnkübasyon sonrasında NRU testi ile hücre canlılığı incelenir. Hücre canlılığı kimyasal maddeye maruz bırakılmamış negatif kontrollerin yüzdesi olarak ifade edilir. Test edilen test maddelerinin tüm konsantrasyonları için hücre canlılığı hesaplanır.

Pozitif kontrol olarak OECD TG 432'de referans edilen fototoksisite potansiyeli bilinen, PIF ve MPE değerleri hesaplanmış maddelerden biri seçilebilir (Tablo 2.6)

Tablo 2.6: 3T3 NRU Fototoksosite testinde pozitif kontrol olarak kullanılan kimyasallar-(OECD/OCDE 432 2004).

Kimyasal Madde	PIF	MPE
Amiodaron HCL	>3,25	0,27-0,54
Klorpromazin HCL	>14,4	0,33-0,63
Norfloksasin	>71,6	0,34-0,90
Antrasen	>18,5	0,19-0,81
Protoporfirin IX, Disodyum	>45,3	0,54-0,74
L-Histidin	PIF değeri yok	0,05-0,10
Heksaklorofen	1,1-1,7	0,00-0,05
Sodyum Lauril Sülfat	1,0-1,9	0,00-0,05

2.5.3. 3T3 NRU Fototoksosite Testi'nde Sonuçların Hesaplanması ve Raporlanması

Foto Irritasyon Faktörü (PIF) veya Ortalama Foto Etkisi (MPE) hesaplanır. PIF değeri, radyasyon yokluğunda inhibitör konsantrasyon 50 (IC₅₀:hücre canlılığını %50 oranında düşüren konsantrasyon) değerinin, radyasyon varlığında IC₅₀ değerine oranıdır:

$$PIF = IC_{50}(-UV) / IC_{50}(+UV)$$

IC₅₀ değerinin olmadığı durumlarda MPE değeri aşağıdaki formülle hesaplanır:

$$MPE = \frac{\sum_{i=1}^n w_i PE_{c_i}}{\sum_{i=1}^n w_i}$$

Elde edilen sonuçlara göre maddenin fototoksik olup olmadığı şu şekilde değerlendirilir:

PIF < 2 veya MPE < 0,1 ise fototoksik değildir.

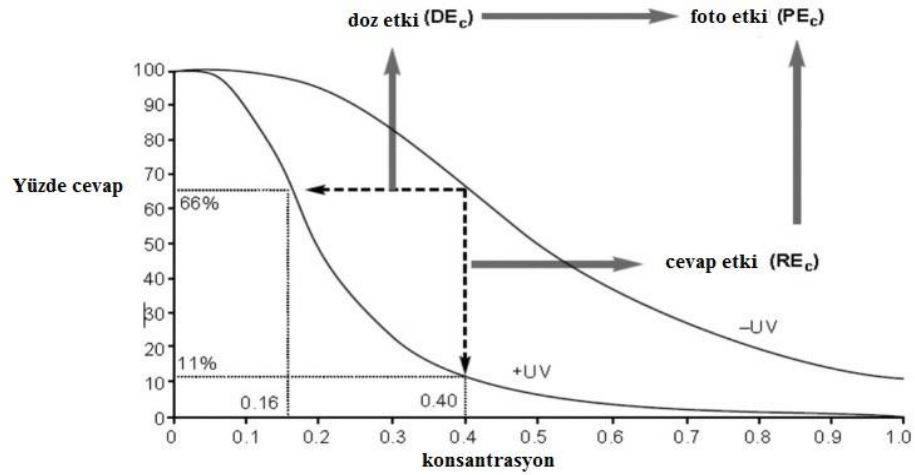
PIF >2 veya MPE >0,1 ise muhtemelen fototoksiktir.

PIF >5 veya MPE >0,15 ise fototoksiktir.

PIF ve MPE'nin hesaplanabilmesi için PHOTOTOX yazılım programı oluşturulmuştur. PHOTOTOX programı test maddesinin (-UV) ve (+UV) absorbans değerleri kullanarak doz etki ve cevap etki eğrileri oluşturur ve bu eğrilerden oluşturduğu doz etki (DE_c) ve cevap etki (RE_c) değerlerini çarparak foto etki (PE_c) değerini bulur (Şekil 2.12) (Phototox Version 2):

$$\text{Foto etki (PE}_c\text{)} = \text{Doz etki (DE}_c\text{)} \times \text{Cevap Etki (RE}_c\text{)}$$

(PE_c) değerini kullanılarak da MPE değerini hesaplar. MPE değerleri şu şekilde yorumlanır: MPE<0,1 ise fototoksik değildir, MPE>0,1 ise muhtemelen fototoksiktir, MPE>0,15 ise fototoksiktir.

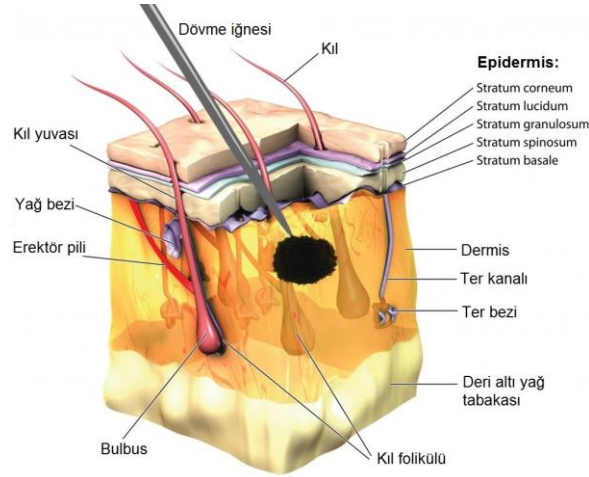


Şekil 2.12: Yüzde cevap-konsantrasyon grafiği-(OECD/OCDE 432 2004)

2.6. Dövme Boyalarından İleri Gelen Fototoksik Etkiler ve Dövme Boyaları İle İlişkili Advers Reaksiyonlar

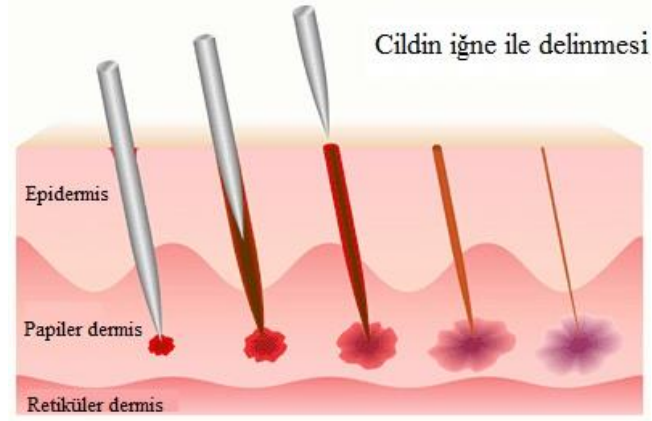
Dövme işlemi, istenen renkteki boya'nın derinin dermis tabakasına uygulanmasıdır. Bu uygulamanın yapılabilmesi için öncelikle dövme aletinin iğnesi renkli boyanın içerisine

daldırılır. Boya kaplı iğne dakikada ortalama 100 kez deriyi delerek boya pigmentlerini derinin 1.5-2 mm altına dermis tabakasına uygulanmasını sağlar (Şekil 2.13) (Grant ve ark. 2015).

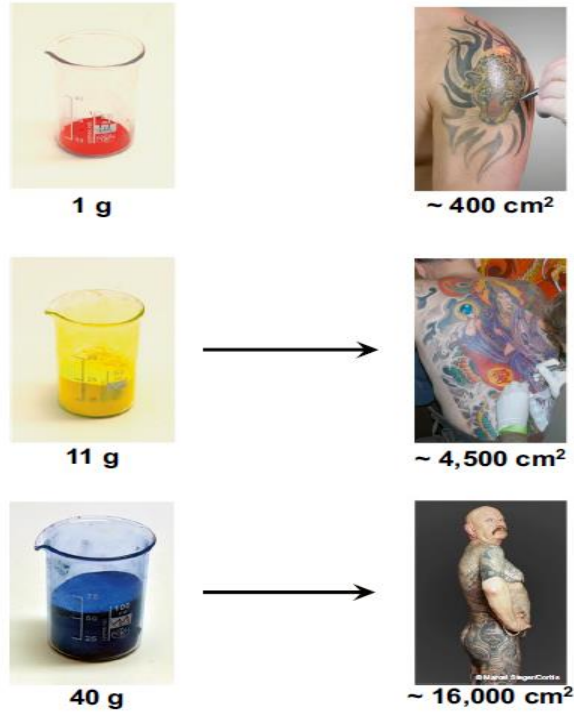


Şekil 2.13: Dövme iğnesinin deriye uygulamasının gösterimi (Science Of Permanent Tattoos: How Do They Get Permanent? 2019)

İğne epidermisi geçerek dermise ulaşır ve papiler tabakaya nüfuz eder (Şekil 2.14). 1 cm² dövme için 1 mg-2,5 mg arası dövme boyası kullanılır (Laux ve ark. 2016; Schreiver ve Luch 2016). 400 cm² 'lik üst kol bölgesine uygulanan dövme boyası miktarı 1 g olarak hesaplanabilir. Vücudunun büyük çoğunluğu dövme ile kaplı olan kişiler ise 40 g gibi yüksek miktarda dövme boyasını vücutlarında taşımaktadır. Dövme yapılan alanın genişliği, farklı renklerde dövme boyası kullanımı ve partikül yoğunluğu dövme boyasından ileri gelen zararlı maddelere maruziyet olasılığını arttırmaktadır. Bununla birlikte tehlikeli bozunma ürünlerinin cilt ve lenf bezlerini kronik olarak etkilemektedir. (Şekil 2.15) (Schreiver ve Luch 2016).



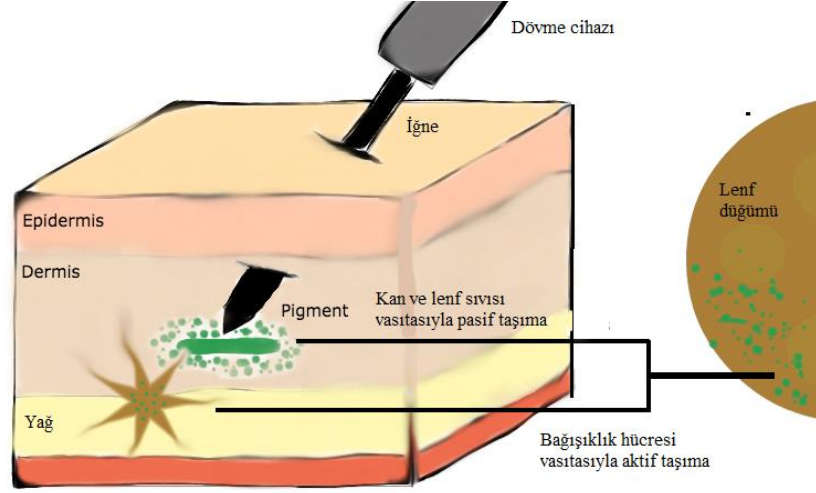
Şekil 2.14: Dövme boyasının deriye uygulamasının gösterimi-(Bush ve ark. 2016)



Şekil 2.15: Deriye uygulanan dövme boyası miktarı ve uygulama alanı ölçüsü arasındaki ilişki-(Schreiver ve Luch 2016).

Bu işlem vücutta dermiste bir travma olduğu sinyalini verir. Diğer tüm travmalarda olduğu gibi vücudun bağışıklık sistemi devreye girer. Vücutta meydana gelen ilk tepki pıhtı oluşturarak kanamayı durdurmak olur. Akabinde deri dokuları şişer (ödem oluşumu) ve bağışıklık sistemi hücreleri (nötrofiller ve makrofajlar) yabancı maddeleri, ölü hücre kalıntılarını ve mikropları fagosite etmek için yaralı bölgeye göç ederler. Fibroblastların hareketi ile yaralı papiler dermis alanındaki kolajen yapı tamir edilir, sonucunda yara dokusu kalır. Uzun zaman geçtikten sonra pigment

partikülleri dermisen daha alt katlarına (retiküler dermis) inebilir ve bu durum dövmenin silik görünmesine neden olur. En önemlisi, dövme boyasının deriye işlenmesinin ardından ilişkili pigment partikülleri vaskülatür yoluyla deriden ayrılabilir ve lenf sistemine girebilir (Şekil 2.16).



Şekil 2.16: Deride dövme boyasının uygulanmasını takiben bağışıklık sistemin verdiği cevabın gösterimi-(Schreiver ve ark. 2017).

Dövme boyları karbon siyahı ve kanserojen, mutajenik olduğu bildirilen ve başka sağlık risklerine de yol açabilen farklı konsantrasyonlarda polisiklik aromatik hidrokarbonlar (PAH'lar) içerebilirler (Grant ve ark. 2015). PAH'ların UV ışık ile singlet oksijen oluşturma potansiyeli göstererek karsinojenik ve mutajenik etkiye sahip olduğu saptanmıştır (Kluger ve ark. 2012 pp. 161-168). Buna ilaveten özellikle siyah ve kırmızı dövme boylarının, ışığa duyarlılık, cilt lezyonu ve kaşıntı gibi istenmeyen etkiler gösterebileceği bildirilmiştir (Grant ve ark. 2015). Siyah boyada bulunan dibütülfitalat, heksakloro-1,3-butadien, metenamin, dibenzofuran, benzofenon, ve 9-florenon maddelerinin de UV ışık ile karsinojenik etki oluşturma potansiyeli olabileceği üzerinde durulmaktadır (Kluger ve ark. 2012 pp. 161-168). Dövmede kullanılan pigmentlerin güneş ışığını absorbe ettiği ve kanser oluşturma riski olduğu yönünde bulgular bulunmaktadır (Kluger ve ark. 2012 pp. 161-168). Dövmenin sebep olduğu 50 kanser vakasına rastlanmıştır. Bu vakalardan 23 tanesi sükuamöz hücresi karsinom ve keratoakantoma, 16 tanesi melanoma, 11 tanesi ise bazal hücre karsinoma olarak saptanmıştır.

Dövme boylarında kullanılan pigmentlerin bazıları nanopartiküldür. Nanopartiküller hücre zarından geçebilirler. Bu durum dövme boylarının başka

hücrelerde toplanabilmesine ve sağlık için ciddi bir risk oluşturabileceğine işaret etmektedir (Grant ve ark. 2015).

Son on yılda Avrupa’da dövme yaptırılanların sayısı hızla artmıştır. Bununla birlikte dövmeden kaynaklı cilt rahatsızlıkları sebebi ile dermatoloji doktoruna başvuran hastaların sayısında da ciddi bir artış söz konusudur. Dövmeden kaynaklı alerjik cilt reaksiyonları hastaların en çok başvurduğu dövmeden kaynaklanan cilt sorunudur. Özellikle kırmızı dövme boyalası alerjik cilt reaksiyonlarına sebep olduğu yönünde pek çok vakaya rastlanmaktadır (Lerche ve ark. 2017).

Daha önce herhangi ciddi bir sağlık sorunu yaşamamış 23 yaşında bir kadın sağ kalçasının üstüne yaptırdığı dövmesinin kırmızı renkli bölgesinde meydana gelen lezyonu sebebi ile bir çalışmaya konu olmuştur. Çalışma başlamadan 8-10 ay öncesinde lezyon meydana gelmiştir. Dövme uygulaması ise yaklaşık olarak 1 yıl öncesinde yapılmıştır. Semptomlar kanama, acı, şişlik, kızarıklık ve ülserleşmedir. Hastaya yapılan biyopsi raporunda hastada granülomatöz dermatit olduğu tespit edilmiştir. Granülomatöz dermatit hastada kırmızı pigmente karşı alerjik reaksiyon gelişmesi sonucunda gözlemlenmiştir (Sweeney ve ark. 2013).

Bir Alman çalışmasında yakın bir zamanda dövme yaptırmış kadınların %1,6’sında, erkeklerin %0,8’inde güneş maruziyeti sonucunda fototoksik etki rapor edilmiştir. Fransız dövmecilerin %23’ünde güneşe maruziyet sırasında ve sonrasında güneşe maruz kalmış dövmeli vücut bölgelerinde şişme rapor edilmiştir. Danimarka’da ise dövmeli bireylerin neredeyse %15,6’sının veneroloji kliniğine başvurduğu kaydedilmiştir. 3 aydan daha uzun süre önce dövme yaptırılan ve Danimarka’da bir plajda güneşlenen kişilerin %21,5’unda fototoksik semptomlar saptanmıştır (Johansen ve ark. 2017).

Danimarka’da karşılaşılan vakalar, kronik istenmeyen etkilerde özellikle alerjik nitelikteki reaksiyonların egemen olduğunu ve kırmızı dövme boyaalarının en riskli renk olduğunu göstermiştir. Dövme yapıldıktan aylar veya yıllar sonra reaksiyonlar ortaya çıkabilir. Bu durum oldukça uzun bir duyarlılık indüksiyon süresine işaret etmektedir ve gecikmiş komplikasyona sebebiyet vermektedir. Dövme pigmentlerinin intradermal depolanması yaşam boyu maruziyeti beraberinde getirmekteve ciddi sağlık sorunlarına sebebiyet verebilmektedir. Reaksiyonların çoğu inflamatuvar oluşturmaktadır ve şiddetli alerjideki ülserasyondan aşırı epidermal hiperplazi ve hatta konjektif üveitlere kadar

değişebilir. Altta yatan inflamatuvar histolojik işaretler, interfaz dermatit ve T hücreli lenfosit infiltrasyonudur. Bu olay dizisinin kırmızı dövme boyasına karşı alerjik reaksiyon gösterdiği de saptanmıştır (Laux ve ark. 2016).

Yapılan bir çalışmada kırmızı dövme boyasının UV ışını ile kansere sebep olup olmadığı araştırılmıştır. İmmünokompetan C3.Cg/TifBomTac tüysüz farelerin (n=99) sırt bölgesine sıklıkla kullanılan ve 2-anisidin içeren bir kırmızı dövme boyası ile dövme uygulanmıştır. Farelerin yarısı haftada üç defa UV ışının üç standart eritem dozuna maruz bırakılmıştır. Birinci, ikinci ve üçüncü skuamöz hücreli karsinomun (SCC) indüksiyon süresi ölçülmüştür. Tüm UV-ışınlanmış farelerde SCC geliştiği saptanmıştır. Birinci ve ikinci tümörün başlangıcına kadar geçen süre kırmızı dövmeli grupta kontrol grubuna kıyasla aynı bulunmuştur (182 - 186 gün ve 196 - 203 gün, P = ns). İstatistiksel olarak, üçüncü tümör kırmızı dövmeli grupta kontrol grubundan biraz daha hızlı görünmüştür (214'e karşılık 224 gün, P = .043). İkinci ve üçüncü tümör için, büyüme oranı kırmızı dövmeli grupta kontrole kıyasla daha hızlı bulunmuştur (31'e 49 gün, P = .009 ve 30'a 38 gün, P = .036). Sonuç olarak, 2-anisidin içeren kırmızı dövme boyası ile dövmeli ciltte spontan kanser gözlenmemiştir. Bununla birlikte, UV'ye maruz kalan kırmızı dövmeler, üçüncü tümöre göre daha hızlı tümör başlangıcı göstermiş ve kırmızı dövme boyası belirten ikinci ve üçüncü tümörün daha hızlı büyüme oranı, UV ile bir kokarsinojen gibi davranmıştır (Lerche ve ark. 2017).

Bir dövmede ortaya çıkan kontakt alerjisi ciltte hiperkeratoza, hatta cildin ülserasyonuna ve nekrozuna sebep olabilir. Komplikasyon, dövmenin uygulanmasından hemen sonra veya yıllar sonra ortaya çıkabilmektedir. Bazen, alerjik reaksiyon eski ve benzer renkli dövmelerde aynı anda ortaya çıkabilir. Bir dövmedeki kronik alerjik reaksiyonun hastalık belirtileri oldukça zorlayıcı olup yaşam kalitesini önemli ölçüde azaltır. Bu nedenle, dövme boyalarına ilişkin güvenliği daha iyi anlayabilmemiz için in vitro toksisite verilerinin üretilmesi büyük önem taşır. Dövme boyalarının sağlığa ilişkin riski ile ilgili son yayınlar, cildin dövme boyalarına maruz kalmasını takiben meydana gelen sitotoksosite, genotoksosite ve reaktif oksijen türlerinin üretilmesi hakkında bilgiler sağlamıştır. Bununla birlikte, dövme boyalarının duyarlılık potansiyeli hakkındaki in vitro veriler çok azdır (Lerche ve ark. 2017).

Tez çalışmasında 3 farklı dövme markasından siyah, kırmızı ve mavi renkli dövme boyları alarak fototoksik etki oluşturup oluşturmadıklarını 3T3 NRU Fototoksisite testi ile inceledik.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu tez çalışması İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Teknoloji A.B.D. Hücre Kültürü ve Araştırma Laboratuvarı'nda gerçekleştirildi.

3.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Alkol	Sigma-Aldrich 32221
Asetik Asit	Merck
Eternal Dövme Boyası Siyah Triple Black	Eternal
Eternal Dövme Boyası Kırmızı Lipstick Red	Eternal
Eternal Dövme Boyası Mavi Muter Earth	Eternal
Etilendiamin tetra asetik asit (EDTA)	Sigma E5134
Dövme Boyası Siyah	Tang Dragon
Dövme Boyası Kırmızı	Tang Dragon
Dövme Boyası Mavi	Tang Dragon
Dulbecco'nun modifiye edilmiş eagle besiyeri	
Dimetilsülfoksit (DMSO)	Biomatik A2424
Fenol kırmızı içermeyen besiyeri (DMEM)	Gibco
Fosfat tamponu (PBS)	Wisent 311010CL
Intenze Dövme Boyası Siyah True Black	Intenze
Intenze Dövme Boyası Kırmızı Bright Red	Intenze
Intenze Dövme Boyası Mavi Mario's Light Blue	Intenze
Klorpromazin	Eczacıbaşı
Nötral kırmızı boyası	Sigma-Aldrich N7005
Tripsin (1:250)	Biomatic A4027

3.2. Kullanılan Alet ve Cihazlar

Ayarlanabilir otomatik pipetler	Eppendorf
Ayarlanabilir 8 kanallı pipetler	Eppendorf
Ayarlanabilir 8 kanallı otomatik dispenser pipet	Eppendorf
Buzdolabı (+4°C)	Arçelik 5231 NFY
CO ₂ 'li inkübatör	Thermo-Scientific
Derin dondurucu (-20 °C)	Arçelik 2041 D
Derin dondurucu (-80 °C)	Wisecry-Daihan-Scientific
Elektronik hassas terazi	Precisa XB 220 A
Etüv	Nüve
Faz-kontrast invert mikroskop	Olympus CKX4
Hassas terazi	Mettler H20
Laminar kabin (Biyogüvenlik seviyesi 2)	Tezsan
Mikroplaka okuyuculu spektrofotometre	Biotek-Epoch
Mini orbital çalkalayıcı	Stuart SSMI
Otomatik pipetör	Eppendorf
Otoklav Hirayama	HV-50L
pH metre	Hanna HI 1131 B
Bidistile su cihazı	Millipore Gradient
Santrifüj	Rotofix II
Sıvı azot tankı	Cryopal
Su banyosu	Memmert WB14
Spin santrifüj	Labnet C1301B
UV Lamba	Philips PLL 36 W UVA
UV Metre	Lutron UVA-365SD
Vorteks	Ika NC 28405

3.3. Kullanılan Sarf Malzemeler

Falkon tüpler	Citotest
Hücre kültürü flaskı (25 cm ² ; 75 cm ²)	Nest
Otoklavlanabilir schott şişeler	Isolab
Pastör Pipeti	Greiner bio-one
Pipet ucu	Eppendorf
Pipet ucu	Nest
96'lık Plate	Nest

3.4. Hücre Kültürü Çalışmaları

3.4.1. Hücre Kültürü Çalışmalarına Hazırlık

Çalışmaya başlanmadan önce her defasında hücre kültürü laboratuvarı çalışma alanları ve laminar kabin %70'lik alkolle düzenli olarak temizlendi. Çalışma öncesi ve sonrasında hücre kültürü laboratuvarının ve laminar kabinin UV lambaları açılarak sterilizasyonları sağlandı.

Çalışmada kullanılan cam malzemeler musluk altında bol su ile yıkandı ve sodyum hipoklorit (çamaşır suyu) içeren distile su dolu kovada 1 gece bekletildi. Ardından musluk altında bol su ile tekrar yıkandı ve 1 gece distile su dolu kovada bekletildi. Ertesi gün 40°C'de etüvde kurutuldu. 2 saat boyunca 165°C'de kuru-sıcak hava sterilizasyonu ile sterilize edildi.

Pipet ucu gibi ısıya dayanıklı plastik malzemeler ve hazırlanan çözeltiler 121°C'de 3 atm basınçta 15 dakika sterilize edildi.

Kullanılan besiyeri 0,22 µm'lik steril filitreden geçirilerek sterilize edildi.

3.4.2. Balb/c 3T3 Hücresinin Temini

Balb/c 3T3 hücresi Eskişehir Anadolu Üniversitesi Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Moleküler Biyoloji Anabilim Dalı'ndan temin edildi.

3.4.3. Hücre Kültürü Çalışmasında Kullanılan Çözeltiler

Çözeltiler otoklavda 120°C'de 15 dk. boyunca sterilize edilen mili-Q saf su kullanılarak steril ortamda hazırlandı. Hücre besiyeri ve PBS çözeltisi +4°C'de saklandı.

Fetal sığır serumu (FBS): 37°C'de çözündürüldü ve besiyerine eklenmeden önce 0,22 µm steril naylon filtreden geçirildi.

Tripsin/EDTA çözeltisi (%0,2-%0,04): 0,2 g tripsin ve 0,04 g EDTA hassas terazide tartıldı. 100 mL bidistile suda çözündürüldü. Ardından 0,22 µm steril naylon filtreden geçirildi ve -20°C'de saklandı.

PBS çözeltisi (1X): 10 mL 10X PBS çözeltisi 90 mL bidistile su ile iyice karıştırıldı ve +4°C'de saklandı.

Hücre dondurma çözeltisi: 1 mL %10'luk antibiyotik çözeltisi, 10 mL FBS ve 10 mL DMSO, DMEM ile 100 mL'ye tamamlandı.

Nötral kırmızısı stok çözeltisi: 100 mg nötral kırmızı boyası 10 mL besiyerinde çözüldü. Elde edilen çözelti 40 µm selüloz asetat filtreden geçirildi. Ardından -20°C'de saklandı.

Nötral kırmızısı çalışma çözeltisi: 80 µl nötral kırmızısı stok çözeltisine 8 mL besiyeri eklendi. Çözelti taze olarak kullanıldı.

Nötral kırmızı çözündürme çözeltisi: 7,5 mL etanol, 0,15 mL asetik asit ve 7,35 mL bidistile su iyice karıştırıldı. Her deneyde taze çözelti hazırlandı.

3.4.4. Hücre Hattının Kültürü

Donmuş haldeki hücreler sıvı azot tankından çıkarıldı. 37°C'lik su banyosunda kapak kısmından tutularak 1-2 dk. çözünene kadar bekletildi. Tamamen çözünmüş olan hücre vialı %70'lik alkolle silindi ve laminar kabin içine alındı. Hücreler, DMEM besiyeri içeren 15 mL'lik falkon tüpe aktarıldı. Besiyerinde süspande edildi. Ardından 1500 rpm'de 3 dk. santrifüj edildi. Süpernatant dikkatlice uzaklaştırıldı ve hücre pelleti besiyerinde tekrar süspande edildi. Bu işlem DMSO'nun toksik etkisinden kurtulmak için tekrar edildi ve 7-10 mL besiyeri içeren 25 cm²'lik veya 75 cm²'lik flasklara ekildi. Flaskların üzerine hücrenin adı, açılma tarihi ve dondurulduğu tarihteki pasaj sayısı ile ilgili bilgiler yazılarak 37°C'de %5 CO₂'li inkübatörde inkübasyona bırakıldı.

3.4.5. Hücrelerin Pasajlanması

Ekim yapılan flasklar mikroskop altında incelendi. Hücreler konfluent duruma geldiğinde flask pasajlanmak üzere laminar kabine alındı. Flask içerisindeki besiyeri dökülerek hücre yüzeyini protein kalıntılarından temizlemek için 2 mL PBS çözeltisi ile yıkandı ve PBS çözeltisi uzaklaştırıldı. Hücrelerin flaskın yüzeyinden ayrılmasını sağlamak amacıyla flaska 2 mL tripsin/EDTA eklenerek 37°C'de %5 CO₂'li inkübatörde 5 dk. bekletildi. Sürenin bitiminde hücrelerin flaskın yüzeyinden ayrılıp ayrılmadığı mikroskop ile kontrol edildi. Hücrelerin ayrıldığı tespit edilince tripsinin aktivasyonunu durdurmak için flaska 3,5-4 mL besiyeri eklenerek, dikkatlice pipetaj yapıldı ve 15 mL'lik falkon tüplere aktarıldı. 1500 rpm'de 3 dk. santrifüj edildi, süpernatant uzaklaştırıldı. Pellet 5 mL besiyeri ile süspand edilip hemasitometrede sayılarak 1x10⁴ hücre/mL olacak şekilde içerisinde besiyeri olan flaska ekildi, %90 bağıl nem 37°C'de %5 CO₂'li inkübatörde inkübe edildi. Hücre dizisinin devamının sağlanması için pasajlama işlemi haftada bir kez tekrarlandı.

3.4.6. Hücrelerin Saklanması

Hücreler belli aralıklarda dondurularak saklandılar. Bölüm 3.4.4'de elde edilen hücre pelletinin üzerine 1 mL hücre dondurma çözeltisi eklenerek pastör pipeti ile pipetaj yapıldı. Yaklaşık 10⁵ hücre/mL olacak şekilde hazırlanan hücre süspansiyonları kriyo viallere aktarıldı. Önce -20°C'de 30 dk. ardından -80°C'de 16-24 saat bekletildikten sonra sıvı azot tankına kaldırılarak saklandı.

3.4.7. Hücrelerin Sayılması

Hücrelerin sayılması için tripan mavisi testi kullanıldı. Tripan mavisi testi ölü hücrelerin tripan mavisi boyasını bozulmuş hücre membranlarının içerisinde alması ve mikroskopta tamamının mavi renkli görünmesi; canlı hücrelerin ise tripan mavisini hücre membranlarının içerisinde almaması, mikroskopta incelendiğinde ise sadece hücre membranlarının mavi gözükmeye esasına dayanmaktadır.

Hücre sayımı hemositometre adı verilen ve 0,1 mm derinliğe ve 1 mm² alana sahip 4x16 küçük kareden oluşan özel sayım lamaları kullanılarak ışık mikroskopunda gerçekleştirildi. Aşağıdaki formül hücre süspansiyonunun mililitresindeki toplam hücre sayısını hesaplamak için kullanıldı:

Toplam hücre sayısı/mL= Sayım sonucu x Seyreltme faktörü x 10^4 x Besiyeri miktarı (mL)

3.4.8. Hücrelerin Mikroplakalara Ekimi

İnkübatörde bekleyen flask inkübatörden çıkartılarak laminar kabine alındı ve flask içerisindeki besiyeri döküldü. Flask 2-2,5 mL PBS ile yıkandı. 1 mL tripsin/EDTA eklendi. 37°C’de %5 CO₂’li inkübatörde 4 dk. bekletildi. Ardından tripsin/EDTA ‘nın aktivasyonunu durdurmak için 2 mL besiyeri eklendi ve 15 mL’lik falkona aktarıldı, 1500 rpm’de 2-3 dk. santrifüj edildi. Süpernatant uzaklaştırıldı. Pellet temiz besiyeri ile süspande edildi. Hemasitometrede sayılarak kuyucuk başına 10^4 hücre olacak şekilde iki adet 96’lık mikroplakalara ekim yapıldı ve 120 rpm’de 1 dk. mini orbital çalkalayıcıda karıştırıldı. Mikroplakalar 37°C’de %5 CO₂’li inkübatöre kaldırıldı ve 24 saat bekletildi.

3.5. 3T3 NRU Fototoksisite Test Çalışmaları

3.5.1. Hücre Kültürlerinin Hazırlanması

Dondurulmuş stok kültürlerden elde edilen hücreler uygun bir yoğunlukta kültür ortamına ekildi ve in vitro 3T3 NRU fototoksisite testinde kullanılmadan önce en az bir kez alt kültürlendi.

3.5.2. Dövme Boyası ve Klorpromazin Çözeltilerinin Hazırlanması

Dövme boyası ve klorpromazin çözeltileri her deneyde taze hazırlandı. Çökelti oluşturmayacak en yüksek konsantrasyondan seyreltmeler yapılarak sekiz konsantrasyonda çözeltiler hazırlandı. Boyaların çözünürlük özellikleri benzer idi.

Dövme Boyası Çözeltilerinin Hazırlanması

4 mg/mL ana stok boya çözeltisi: 4 mg boya alınıp DMEM ile 1 mL’de çözündürüldü.

2 mg/mL boya çözeltisi: Ana stok boya çözeltisinden 100 µL alınıp üzerine 100 µL DMEM eklendi.

1 mg/mL boya çözeltisi: 0,2 µg/mL boya çözeltisinden 100 µL alınıp üzerine 100 µL DMEM eklendi.

0,4 mg/mL boya çözeltisi: 0,1 µg/mL boya çözeltisinden 80 µL alınıp üzerine 120 µL DMEM eklendi.

0,2 mg/mL boya çözeltisi: 0,04 µg/mL boya çözeltisinden 100 µL alınıp üzerine 100 µL DMEM eklendi.

0,1 mg/mL boya çözeltisi: 0,02 µg/mL boya çözeltisinden 100 µL alınıp üzerine 100 µL DMEM eklendi.

0,04 mg/mL boya özeltisi: 0,01 µg/µL boya çözeltisinden 80 µL alınıp üzerine 120 µL DMEM eklendi.

0,02 mg/mL boya özeltisi: 0,04 µg/µL boya çözeltisinden 100 µL alınıp üzerine 100 µL DMEM eklendi.

0,01 mg/mL boya özeltisi: 0,002 µg/µL boya çözeltisinden 100 µl alınıp üzerine 100 µl DMEM eklendi.

Klorpromazin Çözeltilerinin Hazırlanması

Kontrol (-UV) Grubu çalışmaları için:

250 µg/mL klorpromazin çözeltisi: 5mg/mL ana stok klorpromazin çözeltisinden 10 µl alınıp üzerine 190 µl PBS eklendi.

125 µg/mL klorpromazin çözeltisi: 250 µg/mL klorpromazin çözeltisinden 100 µl alınıp üzerine 100 µl PBS eklendi.

62,5 µg/mL klorpromazin çözeltisi: 125 µg/mL klorpromazin çözeltisinden 100 µl alınıp üzerine 100 µl PBS eklendi.

31,25 µg/mL klorpromazin çözeltisi: 62,5 µg/mL klorpromazin çözeltisinden 100 µl alınıp üzerine 100 µl PBS eklendi

15,62 µg/mL konsantrasyonlu klorpromazin çözeltisi: 31,25 µg/mL klorpromazin çözeltisinden 100 µl alınıp üzerine 100 µl PBS eklendi

Maruziyet (+UV) Grubu çalışmaları için:

5 µg/mL klorpromazin çözeltisi: 0,125 µg/µl klorpromazin çözeltisinden 8 µl alınıp üzerine 192 µl PBS eklendi.

3,75 µg/mL klorpromazin çözeltisi: 0,125 µg/µl klorpromazin çözeltisinden 6 µl alınıp üzerine 194 µl PBS eklendi.

2,5 µg/mL klorpromazin çözeltisi: 0,005 µg/µl klorpromazin çözeltisinden 100 µl alınıp üzerine 100 µl PBS eklendi.

1,25 µg/mL klorpromazin çözeltisi: 0,0025 µg/µl klorpromazin çözeltisinden 100 µl alınıp üzerine 100 µl PBS eklendi

0,62 µg/mL klorpromazin çözeltisi: 0,00125 µg/µl klorpromazin çözeltisinden 100 µl alınıp üzerine 100 µl PBS eklendi.

3.5.3. UV Işın Kaynağı

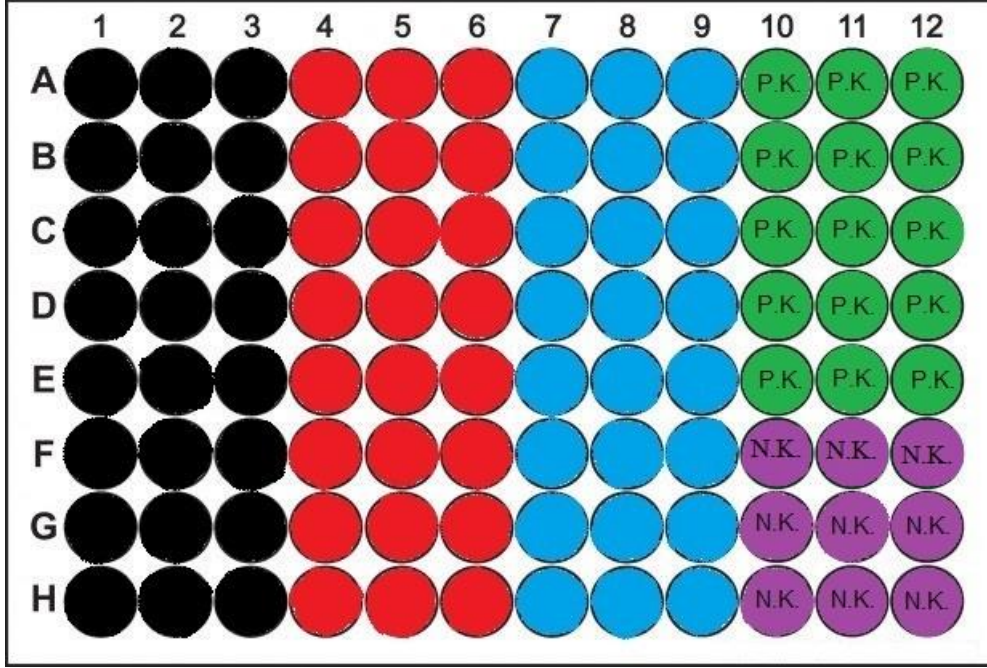
UV kaynağı olarak Philips PLL 36 W UVA lamba kullanıldı. UV ışının şiddeti Lutron marka UVA-365SD UV metre ile ölçüldü. Maruziyet ışın şiddeti 1.7mW/cm^2 olacak şekilde ayarlandı.

3.5.4. 3T3 NRU Fototoksisite Çalışmaları

1. *Gün Çalışmaları:* 3.4.8.'de anlatıldığı gibi iki adet 96'lık mikropalakalara kuyucuk başına 1×10^4 hücre olacak şekilde ekim yapıldı ve 37°C 'de %5 CO_2 'li inkübatörde 24 saat inkübe edildi.

2. *Gün Çalışmaları:* 3.5.2.'de anlatıldığı gibi sekiz farklı konsantrasyonda test edilecek dövme boyası çözeltileri ve pozitif kontrol için de klorpromazin çözeltileri taze olarak hazırlandı. Ekim yapılan ve 24 saat boyunca inkübe edilen hücreler laminar kabine alındı. Önce atık besiyeri mikropalakalardan uzaklaştırıldı. Ardından 150 μl PBS ile plakalar yıkandı. Her bir kuyucuğa 100 μl PBS eklendi. Ardından 50 μl dövme boyası çözeltilerinden ve klorpromazin çözeltilerinden eklendi. Mikropalakalar 60 dk. 37°C 'de %5 CO_2 'li inkübatörde inkübe edildi. İnkübasyon sonrası mikropalakalardan biri oda sıcaklığında 50 dk. UVA ya maruz bırakıldı (**+UV Grubu**). Diğer mikropalaka oda sıcaklığında aynı sürede karanlıkta bekletildi (**-UV Grubu**). Ardından mikropalakalar laminar kabine alındı. Test çözeltileri döküldü ve 150 μl PBS ile iki defa yıkandı. 150 μl DMEM besiyeri eklendi. 1 gece inkübe olması için mikropalakalar 37°C 'de %5 CO_2 'li inkübatöre kaldırıldı.

Maruziyet mikropalaka düzeni Şekil 3.1'de görülmektedir.



Şekil 3.1: 96 kuyucuklu mikrolakada maruziyet düzeni

Siyah kuyucuklar: siyah dövme boyası uygulanmış kuyucuklar

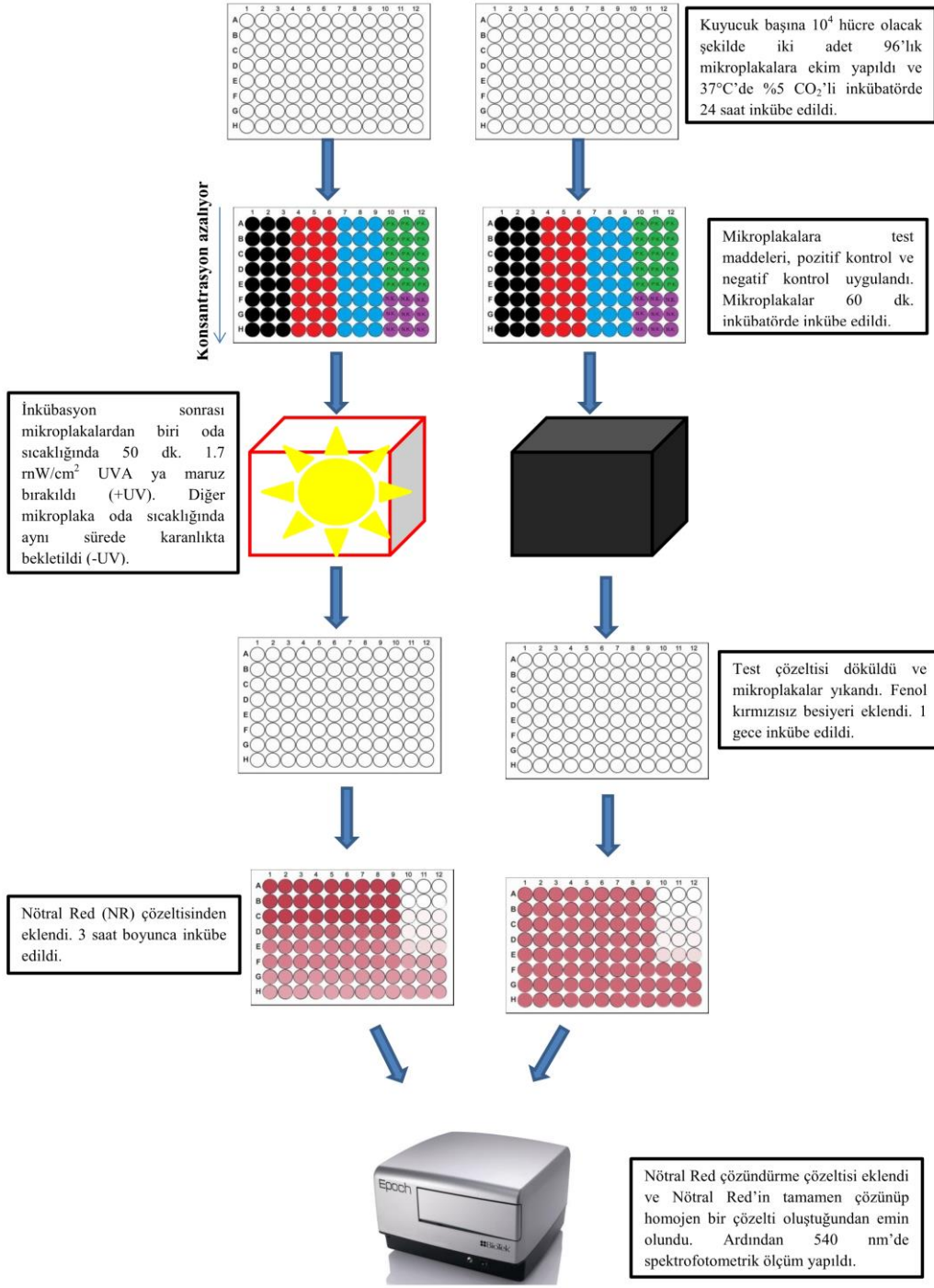
Kırmızı kuyucuklar: kırmızı dövme boyası uygulanmış kuyucuklar

Mavi kuyucuklar: mavi dövme boyası uygulanmış kuyucuklar

P.K. (Pozitif Kontrol): Klorpromazin çözeltileri uygulanan kuyucuklarlar

N.K. (Negatif Kontrol): Hücre ve besiyeri içeren çözelti uygulanan kuyucuklar

3. *Gün Çalışmaları:* Hücreler, büyüklüklerinde, morfolojilerinde ve bütünlüklerinde bir değişiklik olup olmadığını kontrol etmek amacıyla mikroskop altında incelendi. Ardından 150 µl PBS ile hücreler yıkandı. 100 µl DMEM ve 50 µg/mL Nötral kırmızısı (NR) çözeltisinden 100 µl eklendi. 3 saat boyunca 37°C'de %5 CO₂'li inkübatörde inkübe edildi. İnkübasyon sonrası mikrolakalar laminar kabine alındı. Nötral kırmızısı eklenmiş besiyeri döküldü. 150 µl PBS ile hücreler yıkandı. 3.4.3.'de anlatıldığı gibi hazırlanan nötral kırmızısı çözündürme çözeltisinden 150 µl eklendi. 120 rpm'de 10 dk. mini orbital çalkalayıcıda karıştırıldı ve nötral kırmızısının tamamen çözünüp homojen bir çözelti olduğundan emin olundu. Ardından çözeltilerin absorbansları 540 nm'de ölçüldü ve kaydedildi. Şekil 3.2'de deneyinin yapılışı özetlenmiştir.



Şekil 3.2: In vitro 3T3 NRU fototksisite testinin şematik olarak gösterimi

Tüm işlemler Eternal, Intenze ve Tang Dragon marka siyah, kırmızı ve mavi dövme boyları (Şekil 3.3) için üç farklı hafta tekrar edildi. Her deneyde her konsantrasyon boya için 3 tekrar yapıldı.



Şekil 3.3: Çalışmalarda kullanılan Intenze, Eternal ve Tang Dragon dövme boyları

3.5.5. 3T3 NRU Fototoksisite Çalışmalarının Doğrulanması

Pozitif kontrol doğrulanması: Pozitif kontrol olarak kullanılan ve fototoksisitesi ile IC₅₀ değeri bilinen klorpromazin maddesi fototoksisite testine tabi tutuldu. PHOTOTOX programı kullanılarak MPE, PIF ve IC₅₀ değerleri hesaplandı. (Phototox Version 2.0) Klorpromazin için OECD Kılavuzu 432’de PIF değerinin 14,4’den büyük, MPE değerinin ise 0,33-0,63 aralığında olması gerektiği belirtilmiştir. Kılavuzda ayrıca klorpromazin için IC₅₀ değerleri (+UV)’de 0,1-2,0 µg/mL, (-UV)’de 7,0-90,0 µg/mL olarak verilmiştir. Elde edilen deney sonuçları hem bu değerlerle hem de PHOTOTOX programını kullanarak hesaplama yapan başka laboratuvarların elde ettiği sonuçlarla kıyaslandı.

Negatif kontrol doğrulanması: Negatif kontrol olarak kullanılan sadece hücre ve besiyerinden oluşan çözeltilerin absorbans değerleri birbirleri ile kıyaslandı. OECD Kılavuzu 432’e göre UVA’ye maruz bırakılan hücrelerin UVA’ye maruz bırakılmayan hücreleri ile kıyaslandığında en az %80’i canlı olmalıdır (OECD/OCDE 432 2004).

3.5.6. 3T3 NRU Fototoksisite Çalışmaları Sonucunda Elde Edilen Verilerin Değerlendirilmesi ve Raporlanması

Elde edilen absorbans değerleri PHOTOTOX yazılımına yüklenerek MPE değerleri hesaplandı. Absorbans değerleri PHOTOTOX programına Tablo 3.1’de gösterilen düzene göre yüklendi.

OECD Kılavuzu 432 doğrultusunda MPE değerinin 0,1’den az olması durumunda test maddesi “**fototoksik değil**”, 0,1-0,15 aralığında olması durumunda “**muhtemel fototoksik**”, 0,15’den fazla olması durumunda ise “**fototoksik**” olarak değerlendirildi.

PHOTOTOX programına yüklenen absorbans değerleri şablonu Tablo 3.1’de verilmiştir.

Tablo 3.1: PHOTOTOX programına yüklenen absorbans değerleri şablonu

NK	NK	NK	NK	NK	NK	NK	NK	NK	NK	NK	NK
NK	PK	Doz	Doz	Doz	Doz	Doz	Doz	Doz	Doz	PK	NK
NK	PK	Doz	Doz	Doz	Doz	Doz	Doz	Doz	Doz	PK	NK
NK	PK	Doz	Doz	Doz	Doz	Doz	Doz	Doz	Doz	PK	NK
NK	NK	NK	NK	NK	NK	NK	NK	NK	NK	NK	NK
NK	NK	NK	NK	NK	NK	NK	NK	NK	NK	NK	NK
NK	NK	NK	NK	NK	NK	NK	NK	NK	NK	NK	NK
NK	NK	NK	NK	NK	NK	NK	NK	NK	NK	NK	NK

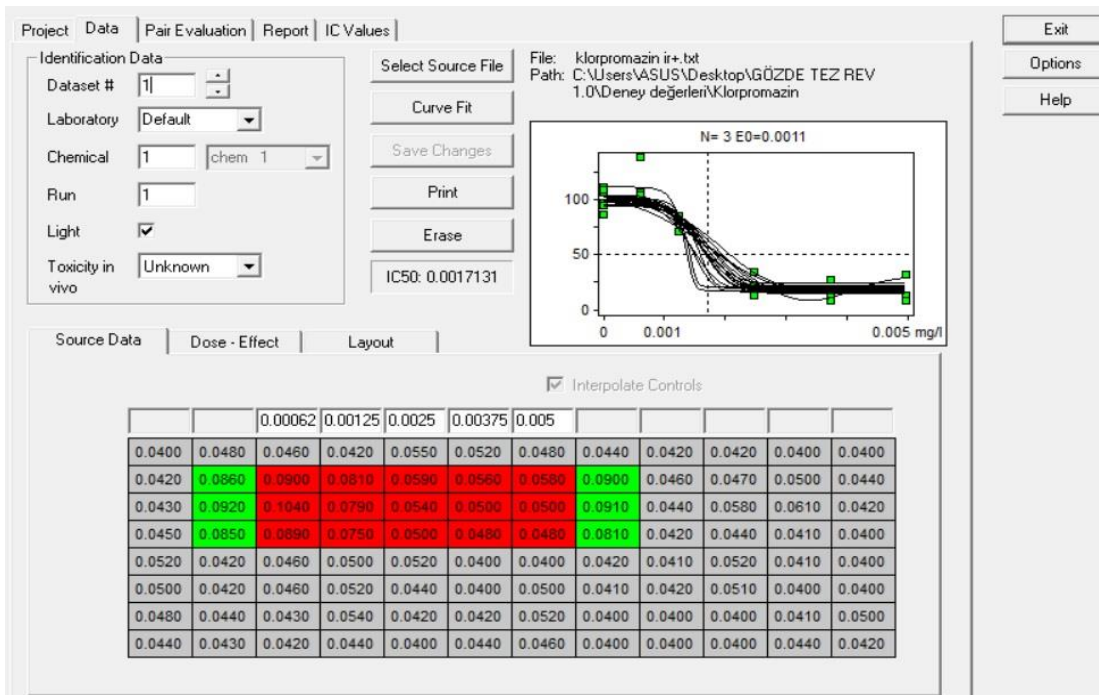
NK: Negatif Kontrol, PK: Pozitif Kontrol, Doz: Boya çözeltileri

4. BULGULAR

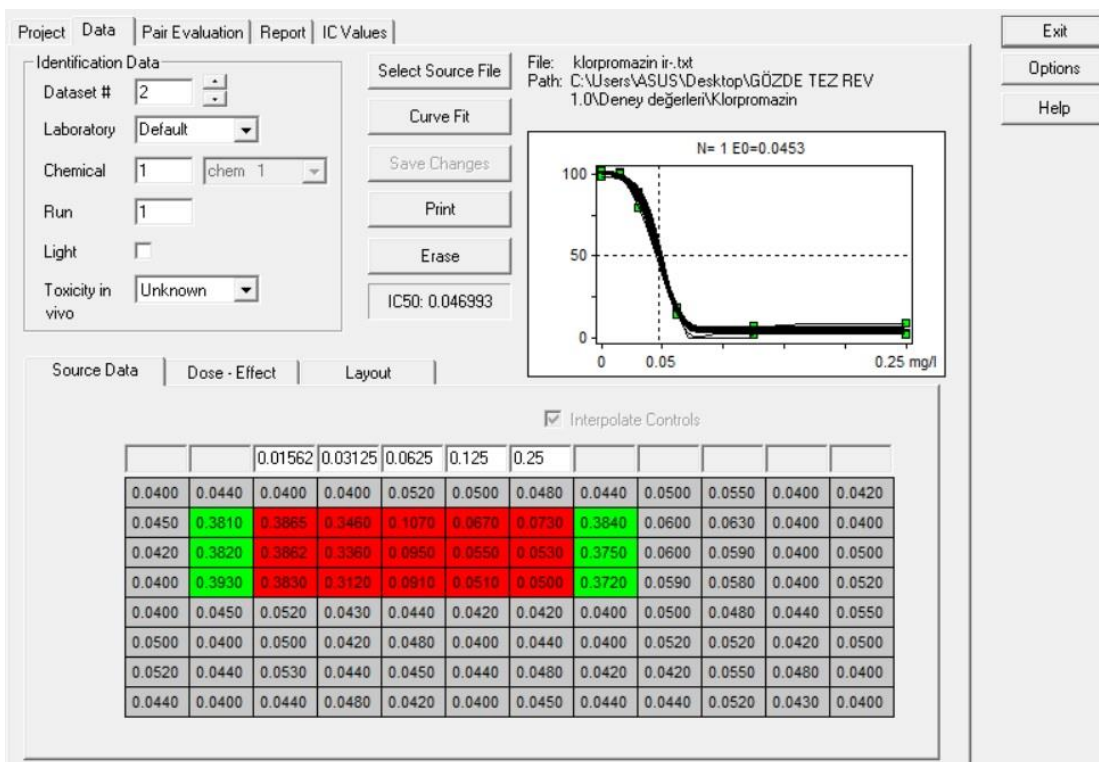
Çalışmalarda Eternal Dövme Boyası (siyah, kırmızı, mavi), Intenze Dövme Boyası (siyah, kırmızı, mavi), Tang Dragon Dövme Boyası (siyah, kırmızı, mavi) kullanıldı. Her dövme boyası için 3'er hafta deneme ve her hafta 3'er tekrar yapıldı. 3T3 NRU testine başlamadan önce herbir boyanın absorpsiyon spektrumları alındı. Boyaların absorpsiyon maksimumlarının; siyah boyalarda 410-420 nm, mavi boyalarda 610-640 nm ve kırmızı boyalarda 560-570 nm arasında olduğu bulundu.

Negatif Kontrol Çalışma Sonuçları: Negatif kontrollerin (+UV) ve (-UV) absorbansları kıyaslandı. Ortalama -UV absorbans değeri 0,5823, (+UV) absorbans ortalama değeri 0,4820 olarak bulundu. Bu değerlere göre UV'ye maruz bırakılan hücrelerin canlılıklarını % 82,7 oranında koruduğu görüldü.

Pozitif Kontrol Çalışma Sonuçları: 3T3 NRU testinin laboratuvar koşullarında doğruluğunu kontrol etmek amacıyla OECD klavuzu doğrultusunda pozitif kontrol olarak seçtiğimiz klorpromazin ile deney gerçekleştirildi. Klorpromazin için OECD Kılavuzu 432'de PIF değeri 14,4'den büyük, MPE değeri ise 0,33-0,63 aralığında, IC₅₀ değerlerinin de (+UV)'de 0,1-2,0 µg/mL, (-UV)'de 7,0-90,0 µg/mL olması gerektiği belirtilmiştir. Bölüm 3.5'de anlatıldığı şekilde yapılan 3T3 NRU testi sonucunda, klorpromazin için PIF değeri 27,7, MPE değeri 0,50 , IC₅₀ değerleri ise (+UV)'de 1,7 µg/mL olarak ve (-UV)'de 47 µg/mL olarak bulundu. Elde edilen bu değerlerin OECD Kılavuzu 432 limitlerine uyduğu görüldü. Şekil 4.1'de klorpromazine ait PHOTOTOX program çıktıları örnek olarak verilmektedir.



Şekil A



Şekil B

Chemical	Lab	Run	In Vivo Toxicity	MPE Mean	MPE Variance	MPE Tox-Prob	PIF Mean	PIF Variance	PIF Tox-Prob
chem 1	Default	1	unknown	0.500	-	1.000	27.727	-	1.000

Şekil C

Şekil 4.1: Klorpromazin için elde edilen bulgular

Şekil A: Klorpromazin (+UV) değerleri

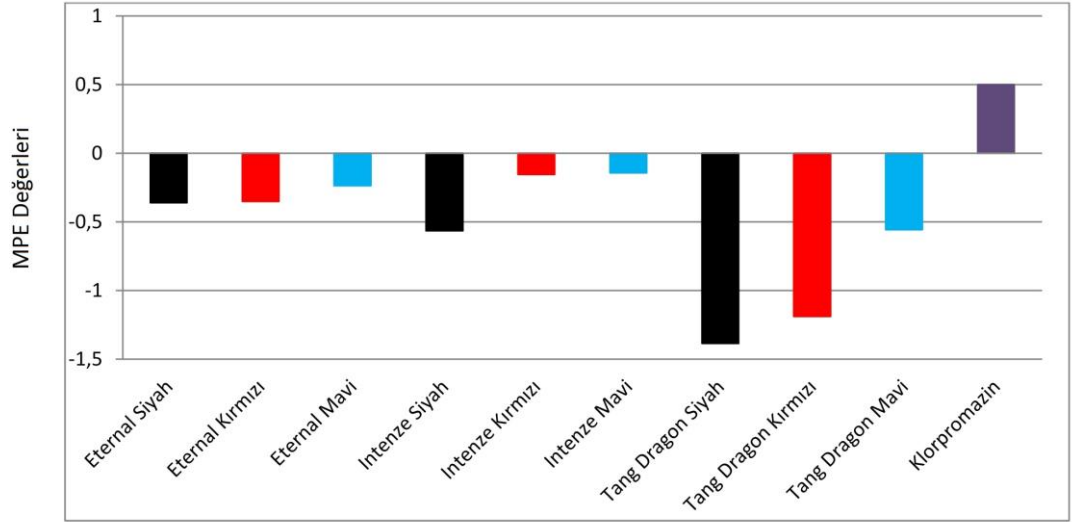
Şekil B: Klorpromazin (-UV) değerleri

Şekil C: Klorpromazin için MPE değerleri

Test koşullarının uygun olduğu belirlendikten sonra 3T3 NRU testi dövme boylarına uygulandı. Boya çözeltilerinin hazırlanmasında en yüksek konsantrasyon çökelti oluşturmayan konsantrasyon olarak belirlendi. Bölüm 3.5’de anlatıldığı şekilde 3 farklı renkte dövme boyası 3’er tekrarla teste tabi tutuldu. Deneyle sonuçunda elde edilen MPE değerleri, standart sapma değerleri ve değerlendirme Tablo 4.1’de verilmektedir. Şekil 4.2’de ise sonuçlar grafiksel olarak gösterilmiştir.

Tablo 4.1: Tüm dövme boyları için elde edilen MPE değerleri ve fototoksitenin değerlendirilmesi

Test maddesinin adı	MPE değeri Ortalama \pm SD	Değerlendirme
Eternal - Siyah	-0,361 \pm 0,07	Fototoksik değil
Eternal - Kırmızı	-0,351 \pm 0,02	Fototoksik değil
Eternal - Mavi	-0,229 \pm 0,01	Fototoksik değil
Intenze - Siyah	-0,559 \pm 0,02	Fototoksik değil
Intenze - Kırmızı	-0,159 \pm 0,01	Fototoksik değil
Intenze - Mavi	-0,126 \pm 0,01	Fototoksik değil
Tang Dragon - Siyah	-1,330 \pm 0,01	Fototoksik değil
Tang Dragon - Kırmızı	-1,155 \pm 0,04	Fototoksik değil
Tang Dragon -Mavi	-0,535 \pm 0,03	Fototoksik değil



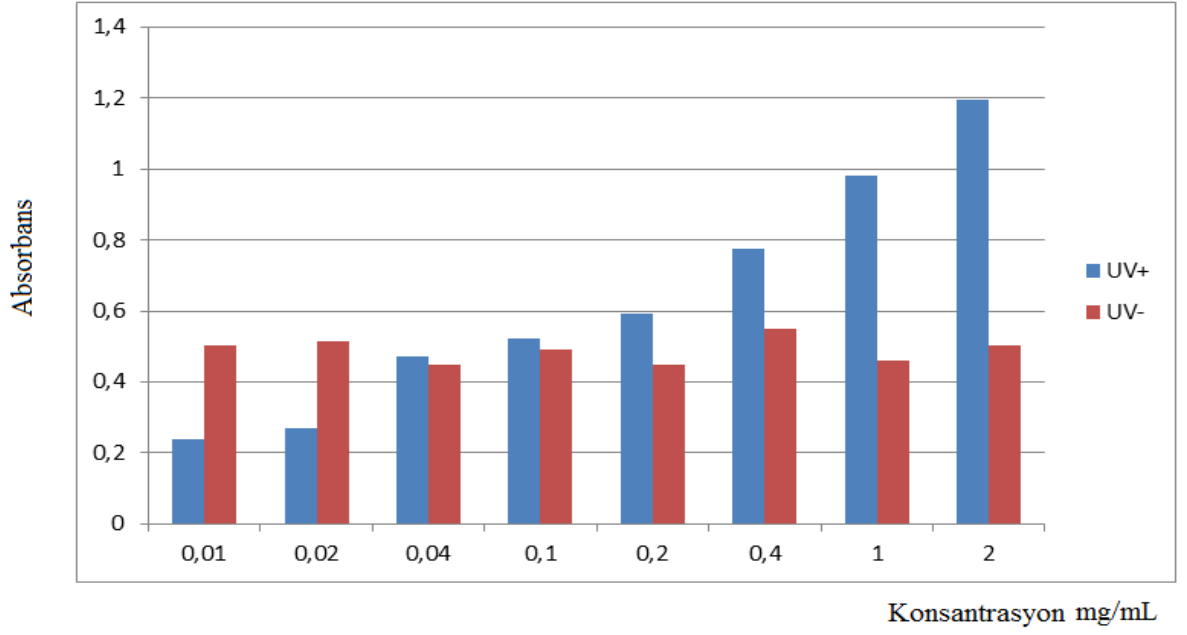
Şekil 4.2: Tüm dövme boya için elde edilen MPE değerlerinin grafiksel gösterimi

Intenze Dövme Boyası Mavi Mario's Light Blue kullanılarak elde edilen -0,034 MPE değeri en büyük, Tang Dragon Dövme Boyası Kırmızı kullanılarak elde edilen -1,639 MPE değeri ise en küçük MPE değeridir.

Her üç markaya ait birer boyanın deney bulguları Tablo 4.2, Tablo 4.3 ve Tablo 4.4'de, grafikleri ise Şekil 4.3, Şekil 4.4 ve Şekil 4.5'de verilmektedir.

Tablo 4.2: Eternal Dövme Boyası Mavi Muter Earth için elde edilen (+UV) ve (-UV) absorban değerleri

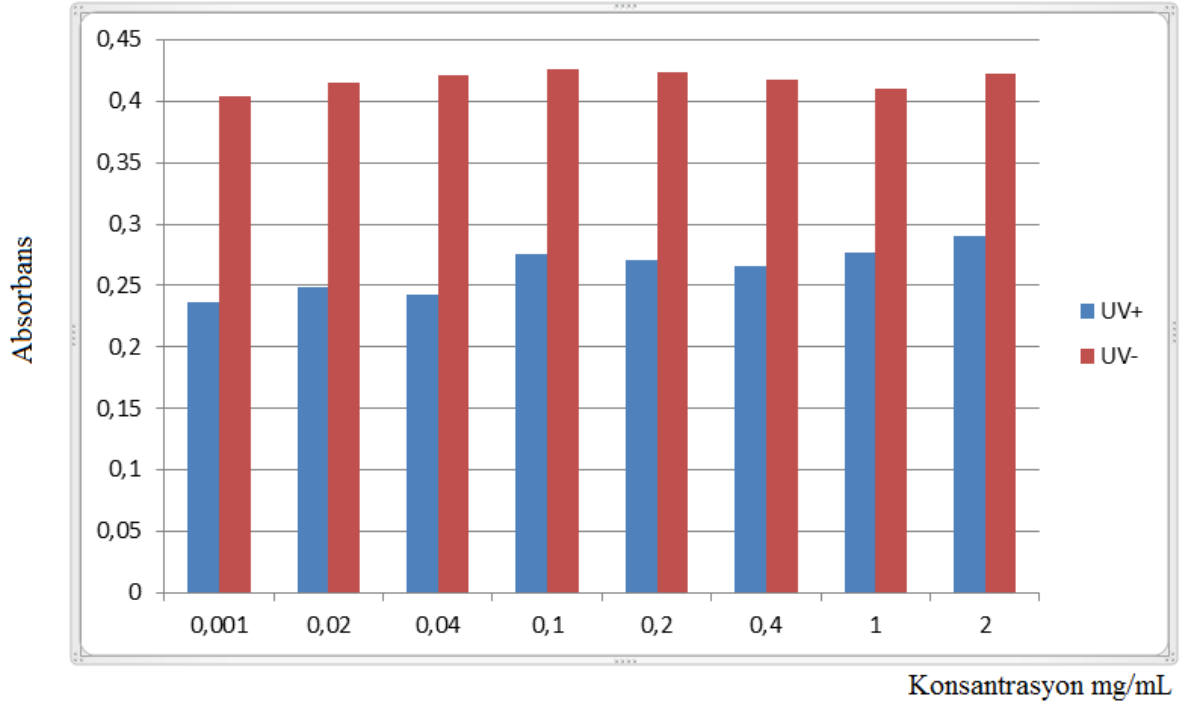
Konsantrasyon (mg/mL)	0,01	0,02	0,04	0,1	0,2	0,4	1	2
Ortalama (+UV) Absorbans ve Standart Sapma Değerleri	0,238± 0,03	0,270± 0,03	0,474± 0,09	0,521± 0,08	0,594± 0,05	0,774± 0,06	0,980± 0,08	1,197± 0,19
Ortalama (-UV) Absorbans Değerleri ve Standart Sapma Değerleri	0,505± 0,06	0,515± 0,06	0,447± 0,06	0,493± 0,06	0,447± 0,06	0,549± 0,09	0,461± 0,02	0,503± 0,05



Şekil 4.3: Eternal Dövme Boyası Mavi Muter Earth için elde edilen (+UV) ve (-UV) absorbans değerlerinin grafiksel gösterimi

Tablo 4.3: Intenze Dövme Boyası Kırmızı Bright Red için elde edilen (+UV) ve (-UV) absorbans değerleri

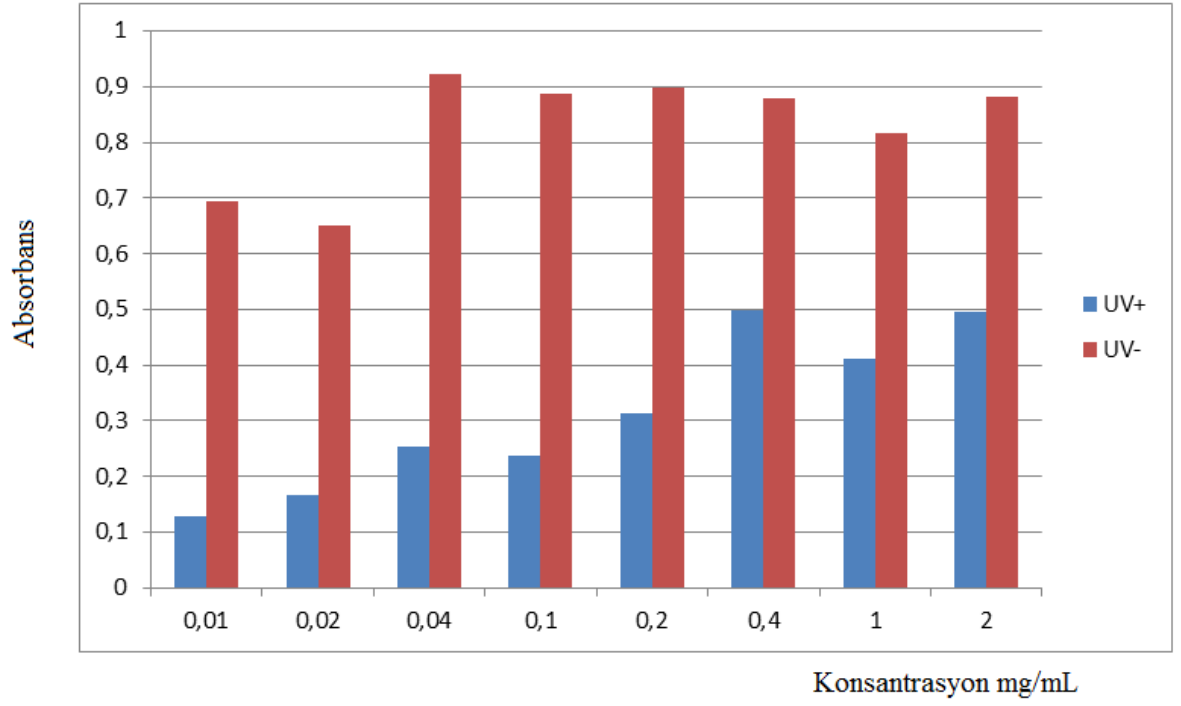
Konsantrasyon (mg/mL)	0,01	0,02	0,04	0,1	0,2	0,4	1	2
Ortalama (+UV) Absorbans ve Standart Sapma Değerleri	0,236± 0,03	0,248± 0,03	0,242± 0,02	0,276± 0,04	0,271± 0,05	0,266± 0,02	0,277± 0,02	0,290± 0,04
Ortalama (-UV) Absorbans Değerleri ve Standart Sapma Değerleri	0,404± 0,04	0,415± 0,05	0,421± 0,05	0,426± 0,05	0,424± 0,05	0,418± 0,05	0,410± 0,05	0,422± 0,03



Şekil 4.4: Intenze Dövme Boyası Kırmızı Bright Red için elde edilen (+UV) ve (-UV) absorbans değerlerinin grafiksel gösterimi

Tablo 4.4: Tang Dragon Dövme Boyası Siyah için elde edilen (+UV) ve (-UV) absorbans değerleri

Konsantrasyon (mg/mL)	0,01	0,02	0,04	0,1	0,2	0,4	1	2
Ortalama (+UV) Absorbans ve Standart Sapma Değerleri	0,130± 0,02	0,165± 0,02	0,255± 0,03	0,237± 0,04	0,314± 0,06	0,499± 0,08	0,411± 0,05	0,494± 0,06
Ortalama (-UV) Absorbans Değerleri ve Standart Sapma Değerleri	0,694± 0,13	0,650± 0,11	0,921± 0,08	0,889± 0,05	0,898± 0,07	0,880± 0,04	0,815± 0,07	0,882± 0,07



Şekil 4.5: Tang Dragon Dövme Boyası Siyah için elde edilen (+UV) ve (-UV) absorbans değerlerinin grafiksel gösterimi

5. TARTIŞMA

Kelime anlamı olarak “vücut derisi üzerine iğne vb. sivri bir araçla çizilmek ve içine renk veren maddeler konulmak yoluyla yapılan yazı veya resim” anlamına gelen dövmenin geçmişi Cilalı Taş Devri’ne dayanmaktadır (Türk Dil Kurumu 2019; Yücel ve Çevik 2017). Farklı kültürlerde farklı amaçlarla uygulanan dövme günümüzde de oldukça yaygın olarak kullanılmaktadır.

Dövme işlemi, istenen renkteki boyaaların bir iğne yardımıyla derinin 1.5-2 mm altına dermis tabakasına uygulanmasıdır. İğne epidermisi geçerek dermise ulaşır ve papiller tabakaya nüfuz eder (Grant ve ark. 2015).

Piyasada satılan çok çeşitli dövme boyaaları mevcuttur. Dövme boyaalarının içerik bilgileri ticari kaygılar ve yasal bir mecburiyetin olmaması sebepleriyle tam ve kesin olarak üretici firmalar tarafından paylaşılmamaktadır. Ancak genel anlamda dövme boyaaları pigmentlerin bir çözücü içerisinde karıştırılması ile hazırlanan süspansiyonlardır. Dövme boyaalarında pigment ve çözücü haricinde bağlayıcı maddeler, koruyucu ve kıvam verici gibi başka maddeler bulunmaktadır. Pigmentler, organik veya inorganik yapıda olup çözücüde çözünmeyen küçük partikül büyüklüğüne sahip renkli veya renksiz kimyasallardır. Pigmentlerin büyük bir çoğunluğunun boyutu 0,01-1,00 µm arasındadır (T.C. Millî Eğitim Bakanlığı 2013; Dirks 2015). İnorganik pigmentler daha mat renklerin elde edilmesinde kullanılırken organik pigmentler daha parlak ve daha yoğun renklerin elde edilmesi için kullanılırlar. Organik pigmentlerin içerisinde en çok kullanılan pigment grubu azo pigmentlerdir (Kabay 2002).

Dövme boyaaları ile alakalı ülkemizde ve dünyada herhangi bir kanun ve yönetmelik bulunmamaktadır. Avrupa’da bazı yasal düzenlemeler mevcuttur ancak bu düzenlemeler henüz kanun olarak yürürlüğe girmemiştir veya yönetmelik olarak yayınlanmamıştır (Piccinini ve ark. 2016).

Son on yılda Avrupa’da dövme yaptıranların sayısı hızla artmıştır. Bununla birlikte dövmeden kaynaklı cilt rahatsızlıkları sebebi ile dermatologlara başvuran hastaların sayısında da ciddi bir artış söz konusudur. Dövmeden kaynaklı alerjik cilt reaksiyonları hastaların en çok başvurduğu dövmeden kaynaklanan cilt sorunudur. Bir dövmede ortaya çıkan kontakt alerjisi ciltte hiperkeratoza, hatta cildin ülserasyonuna ve nekrozuna sebep olabilir. Komplikasyon, dövmenin uygulanmasından hemen sonra

veya yıllar sonra ortaya çıkabilmektedir. Bazen, alerjik reaksiyon eski ve benzer renkli dövmelelerde aynı anda ortaya çıkabilir. Özellikle kırmızı dövme boyasının alerjik cilt reaksiyonlarına sebep olduğu yönünde pek çok vakaya rastlanmaktadır (Lerche ve ark. 2017).

Dövmelerde kullanılan pigmentlerin güneş ışığını absorbe ettiği ve bu etkileşimin kansere zemin hazırladığı yönünde bulgular bulunmaktadır. Dövmenin sebep olduğu 50 kanser vakasına rastlanmıştır. Bu vakalardan 23 tanesi süküamöz hücreli karsinom ve keratoakantoma, 16 tanesi melanoma, 11 tanesi ise bazal hücre karsinoma olarak saptanmıştır (Grant ve ark. 2015).

Daha önce herhangi ciddi bir sağlık sorunu yaşamamış 23 yaşında bir kadın sağ kalçasının üstüne yaptırdığı dövmesinin kırmızı renkli bölgesinde meydana gelen lezyon sebebi ile bir çalışmaya konu olmuştur. Çalışma başlamadan 8-10 ay öncesinde lezyon meydana gelmiştir. Dövme uygulaması ise yaklaşık olarak 1 yıl öncesinde yapılmıştır. Semptomlar kanama, acı, şişlik, kızarıklık ve ülserleşmedir. Hastaya yapılan biyopsi raporunda hastada granülomatöz dermatit olduğu tespit edilmiştir. Granülomatöz dermatit hastada kırmızı pigmentlere karşı alerjik reaksiyon gelişmesi sonucunda gözlemlenmiştir (Sweeney ve ark. 2013).

Bir Alman çalışmasında yakın bir zamanda dövme yaptırmış kadınların %1,6'sında, erkeklerin %0,8'inde güneş maruziyeti sonucunda fototoksik etki rapor edilmiştir. Fransız dövmecilerin %23'ünde güneşe maruziyet sırasında ve sonrasında güneşe maruz kalmış dövmeli vücut bölgelerinde şişme rapor edilmiştir. Danimarka'da ise dövmeli bireylerin neredeyse %15,6'sının veneroloji kliniğine başvurduğu kaydedilmiştir. 3 aydan daha uzun süre önce dövme yaptıran ve Danimarka'da bir plajda güneşlenen kişilerin %21,5'unda fototoksik semptomlar saptanmıştır (Johansen ve ark. 2017).

Fototoksisite, ışıktan kaynaklanan doku reaksiyonlarını tanımlamakta olup organizmaya uygulanan bir maddeye ışığa maruziyet sonrasında derinin toksik cevabıdır (Köse ve ark. 2017). Fototoksisitenin meydana gelmesi için fotonların kromofor veya fotohassaslaştırıcı bir molekül tarafından absorbe edilmesi gerekir (Mang ve ark. 2011). Serbest oksijen oluşumuna sebep olan ROS'lar ciltte doğal olarak bulunurlar ve endojen fotohassaslaştırıcı olarak isimlendirilirler. Organizma kendi doğal enzimatik savunma mekanizması ile ROS'ların seviyesini kontrol altında tutar. Ancak

bazı dövme pigmentleri ROS'ların üretimini artırır. Bunun sonucunda ciltte ödem, yanma ve ağrı gibi semptomlar oluşur (Serup ve ark. 2015). Fototoksisite kimyasal bir maddeye organizmanın sistemik veya topikal olarak maruz kalmasının ardından ışıkla temas etmesi sonucunda akut olarak ortaya çıkar. Güneş ışığında fototoksisiteden esas sorumlu olan UVA'dır. UVA 320-400 nm dalga boyu ile dalga boyu en uzun olan ışımadır ve UV'nin %90-92'sini oluşturur. UVA ışınları derinin alt tabakası olan dermise kadar geçer (Köse ve ark. 2017).

Fototoksisitenin belirlenmesi için kullanılan test yöntemleri *in vivo*, *in vitro*, *in silico* ve *in chemico* test yöntemleri olarak dörde ayrılmaktadır (Kim ve ark. 2015). *In vivo* fototoksisite testleri hayvan kullanımının önüne geçilmesi için yerini hızla *in vitro* fototoksisite testlerine bırakmaktadır (Köse ve ark. 2017). 3T3 NRU Fototoksisite testi *in vitro* fototoksisite testleri içerisinde en çok kullanılan test metotudur (Kim ve ark. 2015).

3T3 NRU Fototoksisite Testi, test maddesinin simüle edilmiş güneş ışığının sitotoksik olmayan bir dozuna maruz kalması ve kalmaması durumundaki sitotoksisitesinin karşılaştırılması esasına dayanmaktadır. Testte hücrelere test maddesine ve ışına maruz kaldıktan 24 saat sonra zayıf katyonik bir boya olan nötral kırmızısı boyası (NR) uygulanır. Bu boya canlı hücreler tarafından hücre membranlarından penetrasyon yoluyla intraselüler ortamlarına alınır ve lizozomlarında birikir. Hücrelerin test maddesine ve sitotoksik olmayan dozda ışına maruz kalmasını takiben hücreler tarafından nötral kırmızısı boyasının alımının madde konsantrasyonuna bağlı olarak azalması sitotoksisite şeklinde ifade edilir. Lizozomların membranları son derece hassas bir yapıya sahiptir ve hücre yüzeyindeki değişiklikler geri dönüşü olmayan lizozomal kırılmalara sebep olur. Ksenobiyotiklerin etkisi ile ortaya çıkan bu değişiklikler, nötral kırmızı boyasının azalması ve bağlanması ile sonuçlanır. Böylece bu testin temeli olan canlı, hasarlı ve ölü hücreler arasında ayırım yapmak mümkün olur (OECD/OCDE 432 2004).

Bir dövmenin yol açtığı kronik alerjik reaksiyonun hastalık belirtileri oldukça zorlayıcı olup yaşam kalitesini önemli ölçüde azaltır. Bu nedenle, dövme boyalarına ilişkin güvenliği daha iyi anlayabilmemiz için *in vitro* toksisite verilerinin üretilmesi büyük önem taşır. Dövme boyalarının sağlığa ilişkin riski ile ilgili son yayınlar, cildin dövme boyalarına maruz kalmasını takiben meydana gelen sitotoksisite, genotoksisite

ve reaktif oksijen türlerinin üretilmesi hakkında bilgiler sağlamıştır. Bununla birlikte, dövme boyaalarının duyarlılık potansiyeli hakkındaki in vitro veriler çok azdır (Lerche ve ark. 2017).

Tez çalışmasında 3 farklı markadan (Eternal, Intenze, Tang Dragon) siyah, kırmızı ve mavi renkte dövme boyaalarının 3T3 NRU Fototoksisite testi ile fototoksisitesi değerlendirildi. OECD Kılavuzu 432'e göre maddelerin fotoreaktif olabilmeleri için UV/Görünür alanda absorpsiyon göstermeleri gerekmektedir. 3T3 NRU testine başlamadan önce herbir boyanın absorpsiyon spektrumları alındı. Boyaların UV/Görünür alanda absorpsiyon gösterdikleri, absorpsiyon maksimumlarının çalışılan dalga boyunda (540 nm) girişime neden olmayacağı gözlemlendi.

Negatif kontrollerin (+UV) ve (-UV) absorbansları kıyaslandı. Ortalama (-UV) absorbans değeri 0,5823, (+UV) absorbans ortalama değeri 0,4820 olarak bulundu. Bu değerlere göre UV'ye maruz bırakılan hücrelerin canlılıklarını % 82,7 oranında koruduğu görüldü.

3T3 NRU testinin laboratuvar koşullarında doğruluğunu kontrol etmek amacıyla OECD klavuzu doğrultusunda pozitif kontrol olarak seçtiğimiz klorpromazin ile deney gerçekleştirildi. Klorpromazin için elde edilen absorbans değerleri PHOTOTOX programına yüklenerek MPE ve PIF değerleri hesaplandı. Klorpromazin için MPE değeri 0,500, PIF değeri ise 27,727 olarak bulundu. Elde edilen MPE ve PIF değerleri PHOTOTOX programı kullanılarak klorpromazin için başka çalışmacılar tarafından hesaplanan MPE ve PIF değerleri ile karşılaştırıldı. Zebet laboratuvarı tarafından yapılan bir çalışmada klorpromazin için hesaplanan MPE değeri 0,546, PIF değeri ise 27,142 olarak, Procter laboratuvarı tarafından yapılan başka bir çalışmada klorpromazin için MPE değeri 0,556, PIF değeri ise 26,266 olarak bulunmuştur. Klorpromazin için elde edilen MPE ve PIF değerleri diğer çalışmacılar tarafından bulunan değerler ile uyumludur.

Dövme boyaalarına uyguladığımız 3T3 NRU testi sonuçlarının PHOTOTOX programı ile hesaplanan MPE değerlerine göre tüm boyalar "fototoksik değil" olarak değerlendirildi. Ancak Şekil 4.3, Şekil 4.4 ve Şekil 4.5'de görüldüğü gibi UVA ya maruz bırakılan gruplarda (+UV) absorbans değerlerinde düşüş gözlenmektedir. (+UV) ve (-UV) absorbans değerleri arasındaki fark Tang Dragon boyasında en fazladır. Bu nedenle

dövme boyalarının fototoksisitelerini doğru değerlendirebilmek için 3T3 NRU testi sonuçlarının başka fototoksisite test yöntemleri ile doğrulanması gerektiğine kanaat getirilmiştir. Fototoksisite testi sonucunda elde edilen veriler dövme boyalarının başka toksikolojik özellikleri hakkında bilgi vermemektedir.

KAYNAKLAR

Ankara Üniversitesi (2019), Kozmetiklerin Oluşturduğu Deri Reaksiyonları: Fotosensitivite, Fototoksisite, Fotokarsinojenite. Erişim 25.03.2019, https://acikders.ankara.edu.tr/pluginfile.php/68051/mod_resource/content/0/Kozm%20%20fototoksik%20etki.pdf

Busch, K. H., Bender, R., Walezko, N., Aziz, H., Altintas, M. A., Aust M. C. (2016). Combination of medical needling and non-cultured autologous skin cell transplantation (ReNovaCell) for repigmentation of hypopigmented burn scars. *Journal of the International Society for Burn Injuries*, 42 (7), 1556-1566.

Callaway, E. (15 Temmuz 2009), *World's oldest tattoos were made of soot*. Erişim 02.05.2019, New Scientists: <https://www.newscientist.com/article/dn17469-worlds-oldest-tattoos-were-made-of-soot/>

Cuyper, C. ve Cotapos, M. L. (2010). *Dermatologic Complications with Body Art Tattoos, Piercings and Permanent Make-Up*. Heidelberg, Berlin: Springer-Verlag.

Çerikan Uğur, F. ve Alanko, M. R. (2016). “Dövme”nin Çeşitli Dillerdeki Etimolojisi ve Kısa Tarihi. *Pamukkale Üniversitesi Sosyal Bilimler Enstitüsü Dergisi*, 25/1, 166-193.

Dirks M. (2015). Making Innovative Tattoo Ink Products with Improved Safety: Possible and Impossible Ingredients in Practical Usage. *Karger*, 48, 118-127.

FDA (2019, Ocak). U.S. Food&Drug Administration Ocak 2019. Erişim 12.01.2019, <http://www.fda.gov/Safety/ReportProblem/ConsumerComplaintCoordinators> <https://www.fda.gov/downloads/Cosmetics/ProductsIngredients/Products/UCM460321.pdf>

Frecentese V. (2013). Tattooing Identity: An analysis of historical and contemporary tattooing practices among members of the military community. *The Colorado College The Department of Anthropology*.

Grant, C. A., Twigg, P. C., Baker, R. ve Tobin, D. J. (2015). Tattoo ink nanoparticles in skin tissue and fibroblasts. *Beilstein Journal of Nanotechnology*, 6, 1183-1191.

Haugh, I. M., Laumann, S. L. ve Laumann, A. E. (2015). Regulation of Tattoo Ink Production and the Tattoo Business in the US. *Karger*, 48, 248–252.

Hazar, M. (2007). Mardin “Kızıltepe-Bozhöyük” Yöresinde Beden İşaretleri. *Makalelerle Mardin*, İstanbul: İmak Ofset.

Johansen, J. D., Menee, T. ve Bonefeld , C. (Ed.) (2017). *Allergy and Tattoos*. Copenhagen, Denmark: The Danish Environmental Protection Agency.

Kabay, N. (2002). Yeni o,o'-Dihidroksi Azo Boyarmaddelerin Metal Komplekslerinin Sentezi ve Yapılarının Aydınlatılması. *T.C. Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi*.

Kim, K., Park, H. ve Lim, K. M. (2015). Phototoxicity: Its Mechanism and Animal Alternative Test Methods. *Toxicological Research*, 31, 97-104.

Kim, M.A., Son, H.U., Yoon, C. S., Nam, S. H., Choi, Y. C. ve Lee A. H. (2014). Comparison of in vitro and in vivo phototoxicity tests with S-(-)-10,11-dihydroxyfarnesic acid methyl ester produced by *Beauveria bassiana* KACC46831. *Biomedical Reports*, 2, 659-663.

Kluger, N. ve Koljonen, V. (2012). Tattoos, inks, and cancer. *Lancet Oncology*, 13, 161-168.

Köse, Ö., Erkekoğlu, P., Sabuncuoğlu, S. ve Koçer-Gümüsel B. (2017). Kozmetik Ürünlerin Fototoksik Etkileri: Mekanizması ve Alternatif Test Metotları. *Marmara Pharmaceutical Journal*, 21/2, 207-215.

Laux, P., Tralau, T., Tentschert, J., Blume, A., Dahouk, S. A., Bäumler, W., Bernstein, E., Bocca, B., Alimonti, A., Colebrook, H., Cuyper, C., Dähne, L., Hauri, U., Howard, P. C., Janssen, P., Katz, L., Klitzman, B., Kluger, N., Krutak, L., Platzek, T., Scott-Lang, V., Serup, J., Teubner, W., Schreiver, I., Wilkniß, E., Luch, A. (2016). A medical-toxicological view of tattooing. *The Lancet*, 387(10016), 395-402.

Lerche, C. M., Heerfordt, I. M., Serup, J., Poulsen, T. (2017). Red tattoos, ultraviolet radiation and skin cancer in mice. *Wiley Online Library Experimental Dermatology*, 26, 1091-1096.

Luoyang Zhengjie Science&Technology Industry Trade Co. Ltd. (2019). Pigment Grade Series Chrome Oxide Green Erişim 05.05.2019, <http://www.chrome-oxide.com/products/pigment-grade-series/sp-1.html>

Mang, R., Stege, H. ve Krutmann, J. (2011). Mechanisms of Phototoxic and Photoallergic Reactions. *Contact Dermatitis, Chapter 6*, 97-104.

Mikkelsen, a. H., Havelund, S. ve Mogensen, A. S. (2004). Survey of chemical substances in consumer products. *Danimarka: Miljoministeriet*.

OECD (2004, Nisan). *OECD Guidelines for the Testing of Chemicals Test No. 432: In Vitro 3T3 NRU Phototoxicity Test*. Erişim 05.04.2018, <https://ntp.niehs.nih.gov/iccvam/suppdocs/feddocs/oecd/oecd432-508.pdf>

OECD (2015, Şubat). *OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 4: Health Effects Test No. 442C: In Chemico Skin Sensitisation Direct Peptide Reactivity Assay (DPRA)* Erişim 18.04.2018, <https://ntp.niehs.nih.gov/iccvam/suppdocs/feddocs/oecd/oecd-tg442c-508.pdf>

Pérez-Sánchez, A., Barrañón-Catalán, E., Herranz-López, M. ve Micol V. (2018). Nutraceuticals for Skin Care: A Comprehensive Review of Human Clinical Studies. *Nutrients*, 10 (4).

PHOTOTOX Version 2 (2002), *OECD Guidelines for the Testing of Chemicals*. Erişim 10.10.2018, <https://www.oecd.org/env/ehs/testing/33968900.pdf>

Piccinini P., Contor, L., Pakalin, S., Raemaekers, T. ve Senaldi, C. (2015). Safety of tattoos and permanent make-up State of play and trends in tattoo practices. *JRC Science For Policy Report*.

Piccinini P., Pakalin, S., Contor, L., Bianchi, I. ve Senaldi, C. (2016). Safety of tattoos and permanent make-up Final report. *JRC Science For Policy Report*.

Resolution ResAP(2008)1 (2019). Erişim 27.04.2019, https://search.coe.int/cm/Pages/result_details.aspx?ObjectID=09000016805df8d3

Resolution ResAP(2003)2 (2019). Erişim 27.04.2019, <https://rm.coe.int/16805d3dc4>

Scallan, M. (2015). Ancient Ink: Iceman Otzi Has World's Oldest Tattoos. Erişim 16.02.2018, Smithsonian Insider: <https://insider.si.edu/2015/12/debate-over-worlds-oldest-tattoo-is-over-for-now/>

Schreiber, I., Hesse, B., Seim, C., Castillo-Michel, H., Villanova, J., Laux, P., Dreijack, N., Penning, R., Tucoulou, R., Cotte, M. ve Luch, A. (2017). Synchrotron-based v-XRF mapping and μ -FTIR microscopy enable to look into the fate and effects of tattoo pigments in human skin. *Scientific Reports*, 7, 11395.

Schreiber, I. ve Luch A. (2016). At the dark end of the rainbow: data gaps in tattoo toxicology. *Archives of Toxicology*, 90, 1763–1765.

Science Of Permanent Tattoos: How Do They Get Permanent? Erişim 14.08.2018, Science ABC: <https://www.scienceabc.com/humans/uncovering-the-reason-of-permanence-of-permanent-tattoos.html>

Serup, J., Harrit, N., Linnet., J. T., Mohl, B., Olsen, O. ve Westh, H. (2015). *Tattoos-Health, Risks and Culture*. Copenhagen, Denmark: Vidensråd For Forebyggelse.

Smith, C., Marks, A. D. Ve Lieberman, M. (2004). *Marks' Basic Medical Biochemistry: A Clinical Approach 2nd (second) Edition*. Philadelphia, A.B.D.: Lippincott Williams & Wilkins.

Sweeney, S.A., Hicks, L.D., Ranallo N., Snyder N. 4th, Soldano, A.C. (2013). Perforating granulomatous dermatitis reaction to exogenous tattoo pigment: a case report and review of the literature. *The American Journal of Dermatopathology*, 35 (7), 754-6.

T.C. Milli Eğitim Bakanlığı (2013). *T.C. Millî Eğitim Bakanlığı Kimya Teknolojisi Pigmentler 2013*.

Türk Dil Kurumu Erişim 10.01.2019: <http://sozluk.gov.tr/>

Türkiye Cumhuriyeti Ticaret Bakanlığı Gümrükler Genel Müdürlüğü (2019). *Gümrük Tarife İstatistik Pozisyonu 2019*. Erişim 24.03.2019,

<https://ggm.ticaret.gov.tr/mevzuat/turk-gumruk-tarife-cetveli/2019-turk-gumruk-tarife-cetveli>

Todorov, M. (2014). Evaluation of the phototoxic effect of drug-like molecules by in silico technologies. *Научни Трудове На Русенския Университет*, 53, Bölüm 1.2.

Yücel, Ö. D. Ve Çevik A. (2017). Kimlik İfadesi Olarak Dövme. *Kriz Dergisi*, 23 (1-2-3), 17-26.

İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI

DÖVME BOYALARININ FOTOTOKSİSİTE POTANSİYELİNİN İN VİTRO 3T3 NRU FOTOTOKSİSİTE TEST SİSTEMİ İLE BELİRLENMESİ

ORJİNALLİK RAPORU

%5 BENZERLİK ENDEKSİ	%3 İNTERNET KAYNAKLARI	%0 YAYINLAR	%4 ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ
--------------------------------	-------------------------------------	-----------------------	-------------------------------

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1	e-dergi.marmara.edu.tr İnternet Kaynağı	%1
2	paperzz.com İnternet Kaynağı	%1
3	Submitted to Erciyes Üniversitesi Öğrenci Ödevi	<%1
4	dergipark.org.tr İnternet Kaynağı	<%1
5	Submitted to Istanbul Medipol Üniversitesi Öğrenci Ödevi	<%1
6	Submitted to Ege Üniversitesi Öğrenci Ödevi	<%1
7	docplayer.biz.tr İnternet Kaynağı	<%1
8	Submitted to Anadolu University Öğrenci Ödevi	<%1

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	Elif Gözde	Soyadı	UTKU TÜRK
Doğ.Yeri	Fatih/İstanbul	Doğ.Tar.	02.04.1988
Uyruğu	T.C.	TC Kim No	50629199876
Email	egukimya@gmail.com	Tel	+90 535 921 13 41

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mez. Yılı
Doktora		
Yük.Lis.	İstanbul Üniv. Farmasötik Teknoloji A.B.D. Kozmetoloji B.D.	2013
Lisans	Yıldız Teknik Univ. Kimya Lisans	2009
Lise	Cibali Lisesi	2004

İş Deneyimi (Sondan geçmişe doğru sıralayın)

	Görevi	Kurum	Süre (Yıl - Yıl)
1.	Yönetim Kurulu Üyesi	ELNES Cosmetic Consulting Kft.	2016-Halen
2.	Yönetici	EGU Kimya Bilişim Tekno. Sanayi ve Tic. Ltd. Şti.	2013-Halen
-3.	Kozmetik Bölümü Asistanı	Sağlık Tekstil Gıda Yatırımı A.Ş.	2011-2012

Yabancı Dilleri	Okuduğunu Anlama*	Konuşma*	Yazma*	KPDS/ÜD S Puanı	(Diğer) Puanı
İngilizce	İyi	İyi	İyi		
İtalyanca	Başlangıç	Başlangıç	Başlangıç		

*Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendirin

	Sayısal	Eşit Ağırlık	Sözel
LES Puanı			
(Diğer) Puanı			

Bilgisayar Bilgisi

Program	Kullanma becerisi
MC Office	İyi
HTML	İyi

Yayınları/Tebliğleri Sertifikaları/Ödülleri

3. Kozmetik Kimyası, Üretimi ve Standardizasyonu Kongresi Konuşmacı Katılım Sertifikası

2. HPCI (Ev ve Kişisel Bakım Kozmetik Hammaddeleri) ve 9. ICOS (Uluslararası Kozmetik Sempozyumu) Katılım Sertifikası

1. Kozmetik Kimyası, Üretimi ve Standardizasyonu Kongresi Katılım Sertifikası

Girişimcilik ve KÜY (Kozmetik Üretim Yönetimi) Sertifikası

Deney Hayvanları Kullanımı Sertifikası

Sorumlu Müdürlük Sertifikası

Özel İlgi Alanları (Hobileri): Sinema, kitap okuma, yüzme