

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

**SODYUM HİPOKLORİTE MARUZ KALMIŞ KİŞİLERİN
LENFOSİTLERİNDEKİ MİKRONÜKLEUS
SIKLIĞININ ARAŞTIRILMASI**

**Tezi Hazırlayan
Selçuk UZUN**

**Tezi Yöneten
Prof.Dr.Hamiyet DÖNMEZ - ALTUNTAŞ**

**Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı
Yüksek Lisans Tezi**

**Eylül 2007
KAYSERİ**

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

**SODYUM HİPOKLORİTE MARUZ KALMIŞ KİŞİLERİN
LENFOSİTLERİNDEKİ MİKRONÜKLEUS
SIKLIĞININ ARAŞTIRILMASI**

**Tezi Hazırlayan
Selçuk UZUN**

**Tezi Yöneten
Prof.Dr.Hamiyet DÖNMEZ - ALTUNTAŞ**

**Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı
Yüksek Lisans Tezi**

**Eylül 2007
KAYSERİ**

Prof.Dr.Hamiyet DÖNMEZ-ALTUNTAŞ danışmanlığında Selçuk UZUN tarafından hazırlanan “Sodyum Hipoklorite Maruz Kalmış Kişilerin Lenfositlerindeki Mikronükleus Sıklığının Araştırılması” adlı bu çalışma, jürimiz tarafından Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü **Tıbbi Biyoloji** Anabilim Dalında **Yüksek Lisans** tezi olarak kabul edilmiştir.

14/09/2007

JÜRİ

İmza

Başkan : Prof.Dr.Hamiyet DÖNMEZ-ALTUNTAŞ



Üye : Prof.Dr.Halil DEMİRTAŞ



Üye : Yrd.Doç.Dr.Çetin SAATÇI



ONAY:

Bu tezin kabulü Enstitü Yönetim Kurulununtarih ve sayılı kararı ile onaylanmıştır.

...../...../.....

Enstitü Müdürü
Prof. Dr. Meral AŞÇIOĞLU

TEŞEKKÜR

Akademik eğitimim ve “Sodyum Hipoklorite Maruz Kalmış Kişilerin Lenfositlerindeki Mikronükleus Sıklığının Araştırılması” isimli Yüksek Lisans Tezimin hazırlanması sırasında emeklerini yardımlarını güler yüzünü ve hoşgörüsünü esirgemeyen çok değerli hocam Prof.Dr.Hamiyet DÖNMEZ-ALTUNTAŞ’a, çalışmalarım boyunca benimle ilgilenen ve destekleyen değerli hocalarım Prof.Dr.Halil DEMİRTAŞ ve Prof.Dr.Nurhan CÜCER’e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca tüm çalışmalarım sırasında manevi destekleriyle beni hiç yalnız bırakmayan aileme, yardımlarını esirgemeyen birlikte çalıştığım öğretmen arkadaşlarıma ve yöneticilerime teşekkür ederim.

Bu çalışmanın yapılması için kan örneklerini sağlayan fabrika çalışanlarına ve yöneticilerine de saygı ve şükranlarımı sunarım.

SODYUM HİPOKLORİTE MARUZ KALMIŞ KİŞİLERİN LENFOSİTLERİNDEKİ MİKRONÜKLEUS SIKLIĞININ ARAŞTIRILMASI

ÖZET

Sodyum hipoklorit alkali ve tahrip edici bir eriyiktir. Yutulursa ağızda ve boğazda yanıklara, şiddetli bulantı kramplarına, kusmaya, nefes almada sıklığa, şoka, şiddetli kas spazmına, koma yada ölüme yol açabilir. Çalışmamız DNA ya da kromozom seviyesindeki hasarların göstergesi olarak önerilen mikronükleus (MN) testi kullanılarak, mesleki olarak sodyum hipoklorite maruz kalmış 7 kişi ve 7 sağlıklı kontrol kişi üzerinde gerçekleştirildi. Sodyum hipoklorite maruz kalmış ve sağlıklı kontrol kişilerden periferik kan örnekleri alınıp kültüre edildi. Kültürlere sitokinezi durdurmak amacıyla 44. saatte 3µg/ml son konsantrasyonda sitokalazın B (Cyt-B) eklendi ve 72. saatte kültürler sonlandırıldı.

Sodyum hipoklorite maruz kalmış kişilerin kültüre edilmiş lenfositlerindeki MN değerleri 1.70±0.33 (ortalama ± SS) ve kontrol kişilerin MN değerleri 0.75±0.27 idi. Kontrol kişilerle karşılaştırıldığında sodyum hipoklorite maruz kalmış kişilerin MN değerlerinin istatistiksel (Mann-Whitney U test) olarak kontrollerin MN değerlerinden daha yüksek olduğu bulundu (p=0.002).

Sonuçlarımız, sodyum hipoklorite maruz kalmış kişilerin lenfositlerinde kromozomal hasarın varlığına işaret etmektedir.

Anahtar Kelimeler: Sodyum hipoklorit, lenfosit, mikronükleus, çamaşır suyu

**INVESTIGATION OF MICRONUCLEUS FREQUENCY IN LYMPHOCYTES OF
SUBJECTS EXPOSED TO SODIUM HYPOCHLORITE**

ABSTRACT

Sodium hypochlorite is a base and damaging solution. If it is swallowed, this may cause irritation in mouth and throat, serious nausea, vomiting, breathing problems, shock, serious muscle spasm, coma or even death. In the present study, we studied on 7 people who had been occupationally exposed to sodium hypochlorite and 7 healthy controls, using the micronucleus (MN) assay proposed as a marker of damages at the DNA or chromosome level. Peripheral blood samples were obtained and cultured from subjects exposed to sodium hypochlorite and healthy controls. To block cytokinesis, at 44 h of incubation, cytochalasin-B (Cyt-B) was added to cultures to give a final concentration of 3 µg/ml, and cells harvested at 72 h.

MN frequencies in cultured peripheral lymphocytes of subjects exposed to sodium hypochlorite and controls were 1.70 ± 0.33 (mean \pm SD) and 0.75 ± 0.27 , respectively. As compared with controls, MN frequencies of subjects exposed to sodium hypochlorite were found statistically (Mann-Whitney U test) higher than MN frequencies of controls ($p=0.002$).

Our results indicate the presence of chromosomal damage in lymphocytes of subjects exposed to sodium hypochlorite.

Key words: Sodium hypochlorite, lymphocytes, micronucleus, bleach

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
İÇ KAPAK	I
KABUL VE ONAY SAYFASI	II
TEŞEKKÜR	III
ÖZET	IV
ABSTRACT	V
İÇİNDEKİLER	VI
TABLO, ŞEKİL VE RESİM LİSTESİ	VII
KISALTMALAR	VIII
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. ÇAMAŞIR SUYU.....	3
2.2. KLOR SALAN BİLEŞİKLER.....	4
2.3. SODYUM HİPOKLORİT	6
2.4. TEMİZLİK ÜRÜNLERİ VE DEZENFEKTANLAR.....	9
2.5. HEPATİT VİRUSLARI, HIV VE DEZENFEKSİYON	10
2.6. ÇAMAŞIR SUYUNUN TARİHÇESİ.....	11
2.7. İN VİTRO MİKRONÜKLEUS TEKNİĞİ.....	13
2.7.1. İnsan Lenfositlerindeki Standart Sitokinez-Blok Mikronükleus Analizi	16
2.7.2. Sitokinez-Bloklu ve Sitokinez-Bloksuz Hücrelerdeki Mikronükleus Analizi.....	16
2.7.3. Mikronükleus ve Non-disjunction'daki Kromozom Kaybını Ölçmek İçin Geliştirilen Moleküler Teknikler.....	17
2.8. SODYUM HİPOKLORİT VE GENOTOKSİSİTESİ.....	18
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	19
3.1. GEREÇLER.....	19
3.2. YÖNTEM	20
4. BULGULAR.....	27
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	31
6. KAYNAKLAR	34
ÖZGEÇMİŞ	

TABLO, ŞEKİL VE RESİM LİSTESİ

	<u>Sayfa no</u>
Tablo 4.1. Sodyum hipoklorite maruz kalmış işçilerin lenfositlerindeki total binükleer hücre sayıları, MN'lu binükleer hücre sayıları, total MN sayısı, MN frekansı (%), yaşları, sigara kullanıp kullanmadığı, maruz kalma süreleri ve NDI değerleri.....	28
Tablo 4.2. Kontrol grubundaki kisilerin lenfositlerindeki total binükleer hücre sayıları, MN'lu binükleer hücre sayıları, total MN sayısı, MN frekansı (%), yaşları, sigara kullanıp kullanmadığı ve NDI değerleri.....	29
Şekil 2.1. Mikronükleus oluşumu.....	14
Şekil 2.2. Sitokalazin-B kullanılarak iki çekirdekli (binükleer) hücre oluşumu.....	15
Resim 3.1. MN'lu binükleer (BN) hücre.....	26

KISALTMALAR

AIDS	: Acquired Immunodeficiency Syndrome (Edinilmiş Bağışıklık Yetersizlięi Sendromu)
BN	: Binükleer
CBMN	: Sitokinez-bloklü mikronükleus
CDC	: Centers for Disease Control
Cyt-B	: Sitokalazin-B
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
HBV	: Hepatit B Virusu
HIV	: Human Immunodeficiency Virusu
ISH	: İn Situ Hibridizasyon
KKD	: Kardeş Kromatid Değişimi (SCE:Sister Chromatid Exchange)
M	: Molar
MN	: Mikronükleus
MNBN	: Mikronükleuslu Binükleer Hücre
NDI	: Çekirdek Bölünme İndeksi
PHA	: Fitohemaglutinin
SHE	: Suriye Hamster Embriyo
UV	: Ultraviyole

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Çeşitli amaçlarla, birçok temizlik işinde kullanılan çamaşır suları içerdikleri kimyasallar nedeniyle kullanıcılarda zararlı etkiler ortaya çıkarabilmektedir. Temizlik işlemi, mineral ve inorganik tuzların kimyasal reaksiyonlar sonucu çözünmesi, kir ve yağların yüzeylerden uzaklaştırılması olarak tanımlanabilir. Temizlik maddeleri dünyada çok yaygın olarak kullanılmaktadır. Çamaşır suyunun yaygın kullanımı ve içerdiği kimyasallara maruziyet sonucu allerji, egzama, astım gibi yan etkileri ortaya çıkabilmektedir.

Çamaşır sularında bulunan en önemli kimyasal maddelerden biri de sodyum hipoklorittir. Sodyum hipoklorit temizlik, dezenfektasyon gibi amaçlarla yaşantımızın birçok alanına girmiştir. Temizlik ve dezenfeksiyonda kullanılan ürünlerin yutulma, cilde temas ve hatta eşyalara temas durumunda tehlike arz etmektedir. Bu tür kimyasalları kullanırken dikkatli davranılmalı, gerekli olmadıkça kullanılmamalıdır.

Klorlu çamaşır suları genellikle mikrop öldürücü olarak kullanılır. Mikropları öldüren oksitleyici çamaşır sularıdır. Evlerde ve hastanelerde bu amaçla en yaygın kullanılan sodyum hipoklorittir ve hücre zarlarına ve hücre proteinlerine etki eder.

Çamaşır suyu üretimi ülkemizde büyük küçük bir çok firma tarafından yapılmakta olup, üretim sırasında işçiler kimyasallarla direkt olarak etkileşim içinde olmaktadır. Gerek üretim sırasında gerekse kullanım sırasında bu kimyasalların etkilerine bir çok insan maruz kalmaktadır.

Mikronükleus (MN) testi, kromozom ya da DNA seviyesindeki lezyonları ortaya çıkarmak için oldukça sık kullanılan bir metottur. Çamaşır suyunda bulunan sodyum hipoklorit DNA üzerinde bu şekilde lezyonlar oluşturabilir. Bu metot ile bölünen hücrelerde kromozom parçalarının ya da tüm kromozomların oluşturduğu MN'ların sıklığı ölçülebilir. MN'lar bize kromozom ya da DNA seviyesindeki lezyonlar hakkında bilgi verir. Sodyum hipokloritin genotoksik etkileri üzerine yapılan çalışmalar, genellikle içme suyu ve değişik su örneklerinde bulunan sodyum hipokloritin çeşitli canlılar üzerindeki genotoksik etkilerini araştırmak üzere yapılan çalışmalardır. Sodyum hipoklorit ile ilgili olarak insan ve memeli hücreleri üzerine olan genotoksik çalışmalar ise in vitro çalışmalardır ve bulunan sonuçlar genotoksik potansiyele sahip olduğu yönündedir. Bu çalışmamızdaki amacımız sodyum hipoklorite maruz kalmış kişilerin lenfositlerindeki MN sıklığını uygun kontrollerin MN sıklığı ile karşılaştırarak, sodyum hipokloritin genetik hasar oluşturup oluşturmadığını belirlemektir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. ÇAMAŞIR SUYU

Bir maddeyi beyazlatmak veya ağartmak, onun rengini çıkarmak veya açmaktır. Çamaşır suyu, oksidizasyon yoluyla bu etkileri yapan bir kimyasal maddedir. Bilinen kimyasal çamaşır suları (beyazlatıcılar, ağartıcılar), hidrojen peroksit içeren “sodyum hipoklorit (NaOCl)” (veya klorlu çamaşır suyu ve oksijenli çamaşır suyu) veya peroksit bulundurmeyen sodyum perborat veya sodyum perkarbonat gibi bileşiklerdir. “Beyazlatıcı toz” kalsiyum hipoklorittir ($Ca[OCl]_2$). Beyazlatma (ağartma), tekstil sanayisinde boyama işleminin ilk adımıdır. Çamaşır suları 2 sınıfa ayrılır. İlki “Klorlu çamaşır suları”, ikincisi “Oksijenli çamaşır suları”dır. Evde kullanılan çamaşır suyu veya sodyum hipoklorit, çamaşıruları beyazlatmak, kirlerini çıkartmak ve mikroplardan arındırmak için kullanılır. Çamaşır suyunun etken maddesi olan sodyum hipokloritin oranı % 5.25’dir. Çamaşır sularını mikrop öldürücü ve koku giderici olarak da kullanırız. Oksitleyici çamaşır suları hücre zarlarına ve hücre proteinlerine etki ederek mikropları öldürür. Evlerde ve hastahanelerde bu amaçla en yaygın kullanılan sodyum hipoklorittir. Kalsiyum hipoklorit, içme suları ve yüzme havuzlarının mikroplardan arındırılması için kullanılır. Eğer beyazlatıcı, bir asitle temas ederse klor gazı açığa çıkar. Bunu önlemek için, pH değerini yüksek tutmak amacıyla (pH 12), ticari beyazlatıcılara ayrıca alkali maddeler eklenir (1).

2.2 KLOR SALAN BİLEŞİKLER

Antimikrobiyal aktiviteye sahip bir çok klor bileşiği ticari olarak bulunmaktadır. Bunlar arasında sodyum veya kalsiyum klorit, sıvı klor, klor dioksit ve inorganik/organik kloraminler sayılabilir. Etki mekanizması tam olarak aydınlatılamamasına rağmen klorun hücredeki anahtar enzimatik reaksiyonları engelleyerek ve protein denatürasyonu oluşturarak dezenfeksiyonu sağladığı kabul edilmektedir (2). Klorin ve klor salan bileşikler orta düzey dezenfektanlar arasında guruplandırıldığı gibi, bazı kaynaklarda konsantrasyona bağlı sporosidal ve mikobakterisidal etkilerinden dolayı yüksek düzey dezenfektanlar gurubunda da gösterilmektedir. Klorin bileşiklerinin farklı bileşikleri ticari olarak mevcuttur. Klor salan maddelerden en iyi bilinenleri sodyum hipoklorit, klorin dioksit, sodyum dikloroizosiyanurat ve kloramin T bileşikleridir. Hipoklorit en yaygın olarak kullanılan şeklidir. Hipoklorit bir yüzyıldan daha fazla kullanılan ve günümüzde de önemini koruyan bir dezenfektandır.

Bu maddeler oldukça aktif oksidize edici maddelerdir ve bu şekilde proteinlerin hücresel aktivitesini bozarlar; nükleotid bazların klorlanmış derivelerini oluşturarak bakteri DNA'sı üzerine etki ederler. Klor salan maddeler yüksek dozlarda sporisit etki gösterir. Spor mantosunun permeabilitesini artırır. Bu maddelerle muamele sonrası spor refraktivitesini kaybeder, spor mantosu, korteksten ayrılır ve lizis oluşur. Klor salan maddeler virüs etki de gösterir. RNA'yı parçalama, kapsidin bozulması gibi olası etki mekanizmaları düşünülmekle birlikte konu üzerinde daha fazla bilgiye ihtiyaç vardır.

Hipoklorit solusyonunun düşük pH'ta, yüksek ısıda ve yüksek konsantrasyonda mikrobisidal etkisi artar. Düşük konsantrasyonda (100 ppm) vejetatif bakteri, mantar ve virüsleri öldürürken, yüksek konsantrasyonda (500-1000 ppm) sporosidal ve tüberkülosidal etki elde edilir. Bu nedenle yarı kritik aletlerin yüksek düzey dezenfeksiyonunda kullanılabilir. Hipokloritin hızlı etki göstermesi, boyama ve yanıcı özelliğinin olmaması ve ucuz elde edilmesi olumlu özelliğidir. Bununla birlikte metaller üzerindeki korozyon (aşındırıcı) etki göstermesi, organik maddelere bağlı stabilitesini kaybetmesi önemli olumsuz yanıdır.

Sodyum hipokloritin kullanım konsantrasyonu değişmekle birlikte, hastanede bazı seçilmiş yarı kritik araçların yüksek düzey dezenfeksiyonu (dental cihaz ve kardiopulmoner resüsitasyon cihazları), hemodiyaliz cihazları gibi aletlerin orta düzey

dezenfeksiyonu, çevre ve banko temizliğinde olduğu gibi düşük düzey dezenfeksiyon amacı ile kullanılır (3).

Hipoklorit geniş spektrumu, hızlı bakterisidal etkisi, suda çözünebilmesi, kolay kullanımı, uygulanma konsantrasyonlarında insanlara olan toksik etkisinin göreceli olarak azlığı, çoğunlukla toksik maddelere ayrışmaması ve ucuzluğu ile ideal ve güvenilir dezenfektanlar arasında kabul edilebilir. Ancak mukoz membranlara iritan etkisi, bazı kimyasallarla etkileşime girerek klor gazının ortaya çıkması, organik madde varlığında etkisinin azalması ve metaller üzerindeki zararlı etkileri dezavantajları olarak göze çarpmaktadır. Doğal ve atık sulardaki organik birleşiklerle etkileşime giren klor gazının organohalid oluşumuna yol açması sağlık açısından endişe uyandırmaktadır. Sağlık açısından endişeleri arttıran diğer bir durum da sodyum hipokloritin depolanması ve kullanımı sırasında az miktarlarda klorlu organik bileşiklerin ortaya çıkmasıdır. Evlerde kullanılan sulandırılmamış hipoklorit ürünlerinde klorun %1-2'si atık sularla karıştığında klorlu organik bileşikler oluşur. Klorlu bileşikler yarar-zarar dengesi gözetilerek kullanılmalıdır.

Sodyum hipoklorit ve benzer bileşikler, maruziyet süresine ve bileşiğin türüne göre ciltte hafif irritasyondan açık nekrozlara kadar değişen yan etkiler ortaya çıkarır. Sodyum hipoklorite maruziyet konjunktiva, solunum ve sindirim sisteminde irritasyona neden olabilir. Klor bileşiklerine bağlı yaralanmalar direkt temas (konsantre solüsyonlar), sodyum hipokloritin yutulması ve klor gazı solunmasına bağlı olarak ortaya çıkabilir (2, 4). Hipoklorit asitlerle etkileştiğinde klor gazı, amonyakla etkileştiğinde ise kloramin ortaya çıkar. Klor gazına maruziyet öksürük, nefes alamama, dispne ile beraber mukoz membranlar ve solunum yollarında irritasyona neden olabilir. Medina-Ramon ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada özellikle ev temizliğinde çamaşır suyu kullanımı sırasında ölçülebilir miktarda klor gazının açığa çıktığı saptanmış, temizlikçi kadınlarda ortaya çıkan solunum yolu şikayetleri ve astım belirtileri bu gazın etkilerine bağlanmıştır (5). Gaza ciddi maruziyet ise kimyasal pnömoni ve akciğer ödemi gibi klinik tablolara yol açabilir (4). Piyasada satılan % 5.25 NaOCl olan çamaşır suyundaki var olan klor 52.500 ppm'dir. Çamaşır suyunun 1/10 sulandırılmış solüsyonu 5.250 ppm ; 1/100 sulandırılmış solüsyonu 525 ppm klor içerir (6).

2.2.1. Klor Konsantrasyonunda Ortaya Çıkan Etkiler

- 1-3 ppm Mukoz membranlarda orta derecede irritasyon
- 5 ppm Gözlerde irritasyon
- >15 ppm Boğazda irritasyon
- 15-30 ppm Öksürük, nefes alamama, yanma hissi
- >50 ppm Pnömoni
- 430 ppm 30 dakika içinde ölüm
- >1000 ppm Dakikalar içinde ölüm (7).

2.3. SODYUM HİPOKLORİT

Sodyum hipoklorit temiz yeşilimsi sarı renkte, sulu çözeltisinde kuvvetli klor kokusu olan bir maddedir. Bozunma sıcaklığı 40°C nin, pH değeri 12 nin üstüdür. Sudaki çözünürlüğü 26 gr/100 gram (0°C'da, NaOCl olarak) olan bu maddenin kaynama noktası %15'lik çözelti için 110°C'dir. 40°C'de yavaşça NaCl, NaClO₃ ve O₂ oluşturarak bozunur (8). Sodyum hipoklorit gibi bir oksitleyici çamaşır suyu, renk yapıcı oluşturan kimyasal bağların parçalanmasıyla işlevini yerine getirir. Bu parçalanma, molekülü, renk yapıcı içermeyen veya görünen ışığı soğurmeyen bir renk yapıcı içeren farklı bir yapıya dönüştürür (1). Sodyum hipoklorit kuru, soğuk yerlerde gün ışığı ve yanıcı maddelerden uzakta depolanmalı, havalandırılmalı kaplar kullanılmalı, depolama sıcaklığını 29 °C'nin altında tutulmalıdır. Sodyum hipokloritin sınırlı raf ömrü yüzünden uzun süre depolamak olanaksızdır (8).

Piyasada bulunan sodyum hipoklorit aynı zamanda sodyum hipoklorit eriyiği olarak da adlandırılır. Alkali ve tahrip edici bir eriyiktir. Uygun bir sodyum hipoklorit çözeltisi içinde %12-15 klor vardır (9). Sodyum hipoklorit yanıcı değildir ancak asidik ortamda, ısı ve ışık etkisiyle bozunur. Kaplarda basınç varsa ısıtıldığında yada asit gazları ile temasında infilak edebilir. Yükseltgen organik maddelerle yangınla sonuçlanabilen şiddetli reaksiyonlara girer. 40°C'in üstündeki sıcaklıklarda, gün ışığında ve asitlerle teması halinde stabil değildir. Asitlerle reaksiyonunda klor; nikel, bakır, kalay, manganez ve demirle reaksiyonunda oksijen; yüksek sıcaklıkta sodyum klorat ve sodyum klorür gibi tehlikeli bozunma ürünleri verir. Yutulursa ağızda ve boğazda yanıklar, şiddetli bulantı krampları, kusma, nefes almada sıkılık, şoka yol açar. Şiddetli kas spazmı, koma yada ölüme yol açan sodyum hipoklorit Amerikan ulusal toksikoloji programı uluslararası kanser araştırma ajansı veya işçi sağlığı ve iş güvenliği

yönetimince kanserojen olarak nitelendirilmemiştir (8). Sodyum hipoklorit çamaşır sularının içinde ortalama %5 oranında bulunmaktadır. Bu tür çamaşır sularından 1 lt suya 2-3 damla; yada 1 teneke suya 1 çorba kaşığı ilave etmek içme sularının dezenfeksiyonu için yeterlidir (10).

Sodyum hipoklorit, Avrupa tehlikeli maddeler listesinde koroziv olarak adlandırılmıştır (11). Dartar-Öztan ve arkadaşları yaptıkları çalışmada %5.25'lik sodyum hipoklorit solüsyonunun paslanmaz çelikten yapılmış dental ekipmanlarda korozyona sebep olduğunu göstermişlerdir. Korozyonun solüsyonda bulunan aktif klor iyonlarından kaynaklanabileceğini ve olayda paslanmaz çeliğin %70'ini oluşturan demirin klora dayanıklı olmamasının rol oynayabileceğini belirtmişlerdir (12). Klor çok iritan bir gazdır. Trakeabronşiyal sistem ve akciğer parankimine zarar verebilir. Hayvan çalışma bulguları, klorun hidroklorik asitten 33 kat daha iritan olduğunu göstermiştir. Etkisi yoğunluğuna, maruziyet süresine ve hücre içi/hücre dışı su içeriğine bağlıdır. Genellikle kısa süreli maruziyetlerde 3 ppm'den az değerler tolere edilebilir. Ancak 1 ppm dünyada standart maruziyet dozu olarak kabul edilmektedir. Toksisitenin temel mekanizması su bulunan ortamlarda hidroklorik ve hipoklorik asit oluşturarak çözünmesi ve sonrasında iyonlaşmasıdır. Bu reaksiyon vücutta nemli hava yolları gibi bölgelerde de meydana gelebilir. İyonlar hücre duvarını geçerek serbest oksijen radikalleri oluşturabilirler. Bu iyonlar ve serbest radikaller hücre içine girdiklerinde fonksiyonel gruplarla etkileşime girerek kloramin ve okside sülfür içeren gruplar oluştururlar (4). Fizyolojik dokularda çözünme hızı klorun toksisitesinin ortaya çıkmasında etkilidir. Amonyak gibi hızlı çözünen gazlar üst solunum yollarını irrite eder ve mukosilyer klerens ile akciğerlerden uzaklaştırılırken, yavaş çözünen klor akciğerin derin kısımlarına kadar ulaşır (4).

Hipokloritler, klorlu dezenfektanların en eski, en çok kullanılan, en ucuz, kolay sağlanan ve hızlı etki eden şekilleri olup sıvı (örneğin: sodyum hipoklorit) veya katı (örneğin: kalsiyum hipoklorit, sodyum dikloroizosiyanat) halde bulunurlar. Geniş bir etki spektrumları vardır (bakterisit, fungusit, tüberkülosit, virüsit ve sporosit) ev temizliği, süt endüstrisi ve yüzme havuzlarında kullanılırlar. Dezavantajları aşındırıcı olmaları (metalleri), organik madde varlığında inaktive olmaları ve dayanıksız olmalarıdır. Dezenfekte edilecek yüzeylerdeki organik madde miktarına bağlı olarak 1/10-1/100'e kadar sulandırılır. Sodyum hipokloritin %5.25'lik stok çözeltisinin

1/10'luk dilüsyonu yaklaşık 5000 ppm serbest klora eşdeğer gelmektedir. Bu çözelti yere dökülen, etrafa sıçrayan kanların dezenfeksiyonu için Centers for Disease Control (CDC) tarafından önerilmektedir. Oldukça temiz yüzeyler için 1000 ppm aktif klor yeterlidir. pH=8 olan musluk suyu ile taze hazırlanan ve kapalı opak şişelerde oda derecesinde saklanan NaOCl stabilitesini bir ay korumaktadır. Ancak bir ay içerisinde sık sık ağzı açılırsa aktif klor konsantrasyonu azalmaktadır (13).

Sodyum hipoklorit, genellikle yeşilimsi sarı solüsyondur ve katı olarak bulunmaz. NaOCl, sıvı ya da gaz klor yani klor elementi ile kostik soda = sodyum hidroksit (NaOH)'ten soğutulmuş elde edilir: Sodyum hipoklorit, bir zayıf asitin tuzu olduğundan hipoklorit iyonları hipokloröz asitle bir eşitlik sağlar ve hipoklorit iyonlarının konsantrasyonu pH'daki artışla artar. Bu nedenle stabil kalması için sodyum hipoklorit solüsyonları alkalidir. Sodyum hipoklorit solüsyonlarından yüksek konsantrasyonlarda ve pH > 8'de aktif klor, hidrokloröz asit (HOCl) salınması güçtür (14). Solüsyonun pH'ı var olan hipoklorit iyonlarının konsantrasyonuna bağlıdır. Sodyum hipoklorit solüsyonları sodyum klorat ve hidroklorik asit oluşturacak şekilde göreceli olarak parçalanır. Sodyum hipoklorit solüsyonu asitlerle karıştırılmamalıdır; bu durum hızla klor gazı salınımına yol açar. Amonyak ya da amonyum bileşikleriyle karışımı da patlayıcı olabilir; tehlikeli miktarda klor ya da kloramin salınabilir. Bu nedenle idrar döküntüsünün temizliği için kullanılmamalıdır. Aseton ve formaldehit gibi bazı organik bileşikler sodyum hipoklorit solüsyonuyla şiddetli reaksiyona girer. Benzer olarak organik kontaminasyon solüsyonun etkisiz kalmasına yol açar. Antimikrop etkinlik organik madde miktarı oranında azalır. Bu nedenle dezenfeksiyonda var olan klor konsantrasyonu harcanandan etkilenmeyecek kadar yüksek olmalı ve antimikrobik etkinlik için yeterli klor sağlanmalıdır. Hipokloritlerin ışığa maruz kalmaları klorid ve oksijen oluşumuyla yıkıma neden olacağından solüsyonların ışığı geçirmeyen kaplarda saklanmaları gerekir (15, 16).

Ağır metaller de aynı şekilde hipokloritlerin parçalanmasına neden olduğundan aşınmaya uğramayacak kaplarda saklanmalıdır (17).

2.4 TEMİZLİK ÜRÜNLERİ VE DEZENFEKTANLAR

Temizlik ürünleri içindeki aktif maddeler, deterjanlar (yüzeysel aktif kimyasallar) alkali/asit maddeler, yumuşatıcılar, dezenfektanlar ve çözücülerden oluşmaktadır. Temizlik işlemi, mineral ve inorganik tuzların kimyasal reaksiyonlar sonucu çözünmesi, kir ve yağların yüzeylerden uzaklaştırılması olarak tanımlanabilir (11). Deterjanlar, yüzeysel gerilimini düşürüp ıslatma özellikleri ile etki gösteren maddelerdir. Uzun zincirli hidrokarbonlardan oluşmuş bir hidrofobik kısım ile hidrofilik polar gruplardan yapıldır. Hidrofilik gruplarının elektrik yükü özelliklerine göre anyonik, katyonik, noniyonik ve amfoterik deterjanlar olarak sınıflandırılırlar. Katyonik deterjanlarda hidrofilik kısım pozitif elektrik yüklüdür. Membran fosfolipitlerinin negatif fosfat kökü ile tepkimeye girerler. Deterjanın hidrofobik kısmı da membranın hidrofobik kısımlarının içine girer. Bu şekilde hücre zarının yapısındaki bütünlük bozulur. Ayrıca hücre içine de giren deterjanlar önemli enzimleri de etkileyerek görevlerini bozarlar (11, 18). Çamaşır suyunun amonyak içeren temizleyicilerle karışımı veya idrar temizlemek için çamaşır suyu kullanımı zehirli klor gazları çıkarabilir ve azot triklorit denilen bir patlayıcı oluşturabilir (1). Temizlik ürünleri içindeki tehlikeli maddeler buharlaşanlar (volatil) ve buharlaşmayanlar (nonvolatil) olarak ikiye ayrılmaktadır. Buharlaşanlar genelde 0-400°C arasında kaynama noktasına sahip ve temizlik sırasında havaya karışan maddelerdir. Buharlaşanlar içinde en toksik olanlar ise organik bileşiklerdir (11). Bu maddeler temizlik sırasında buharlaşabilir veya havaya küçük partiküller şeklinde karışabilirler. Havadaki yabancı maddeler üst solunum yolu veya akciğerlerde hasar oluşturabilmektedir. Direkt temasla da ciltte irritasyona neden olabilirler. Bu şekilde maruz kalınan temizlik ürünleri içindeki zararlı maddeler akut veya kronik etkiler meydana getirebilirler (11). Yapılan çalışmalarda temizlik çalışanlarında astım, kronik bronşit, bronşiyal hiperreaktivite, atopi sıklığının kontrollere göre arttığı gözlenmiştir. Temizlik ürünleri içindeki çamaşır suyu ve amonyağın solunum sistemi yakınmalarından en sık sorumlu olan maddeler olduğu belirtilmiştir. Özellikle çamaşır suyunun astım sıklığını arttırdığı gözlenmiştir (5).

Dezenfektanlar: Klorheksidin, Triklosan

Alkoller: Etanol, isopropanol, n-propanol

Klor Salan Bileşikler : İyotlu Bileşikler

Aldehit Yapılı Dezenfektanlar: Gluteraldehid, Formaldehid, Ortofitoaldehid

Peroksijenler: Hidrojen Peroksit, Perasetik Asit

2.5. HEPATİT VİRUSLARI, HIV VE DEZENFEKSİYON

Son yıllarda Hepatit, Human immunodeficiency virusu (HIV), AIDS gibi ciddi virüs ve bakteriyel enfeksiyon risklerinin yükselme eğilimi göstermesinden ötürü, hastane dezenfeksiyonu ve enfeksiyon kontrol işlemleri çok büyük önem kazanmıştır. Bunun en önemli nedenleri hastanelerde yatan hastaların enfeksiyon kaparak oluşan komplikasyonların iyileşmelerini geciktirmesi ve buna bağlı olarak da hastanede kalma sürelerinin uzayarak sağlık hizmetleri maliyetinin yükselmesidir. Mikroplara karşı savaşmak için insanoğlu zararlı bakterileri ve diğer mikroorganizmaların öldürülmesinde çeşitli metodlar geliştirmişlerdir. Bunlardan bazıları yüksek ısı, radyasyon ve en sık olarak da kimyasal dezenfektanların kullanımlarıdır. Bunların içinde en sık kullanılan ve etkili olan klordur ve ilk olarak 1789 yılında kullanılmıştır. Bunu takip eden yıllarda amonyak içeren bazı sıvı dezenfektanlar imal edilmişse de, klor halen en etkili sıvı dezenfektan olarak kabul edilmektedir. Bunun en önemli nedeni ise, klorun HIV ve diğer çok bulaşıcı mikroorganizmalarla kirlenmiş alanların temizlemesinde en etkili dezenfektan olmasından ötürüdür. Bu nedenle dünya üzerindeki en önemli sağlık otoriteleri HIV ve Hepatit B virüslerine karşı klor tabletlerinin kullanılmasını tavsiye etmektedir. Sıvı klor türlerinin kararlılıklarının zayıf olması, korozif olması ve etkisinin değişkenliği nedeniyle kullanılmalarında birçok dezavantajlar bulunmaktadır.

Klor çeşitli formlarda bulunabilir. Örneğin sıvı halde (sodyum hipoklorit), toz halde (kalsiyum hipoklorit) ve tablet halde (sodyum diklorisosayanurat). En fazla kullanılan form sıvı halde olanıdır. Bunun nedeni de her yerde sıvı olarak satılmasından ötürüdür; herkesin gözünde en ucuz dezefeksiyon metodu olarak görünür (19).

HIV virusuna karşı etkili olduğu gösterilen çok çeşitli dezenfektan solüsyonlar olmasına rağmen, CDC kontamine yüzeylerin dezenfeksiyonu için sodyum hipoklorit (çamaşır suyu) kullanımını önermektedir. Çamaşır suyu 500 ppm (1/100) dilüsyondan 5.000 ppm (1/10) dilüsyona kadar olan konsantrasyonlarda HIV'una etkilidir. Kan ve mukus gibi organik materyallerin dezenfeksiyonunda da kullanılır. Çamaşır suyu solüsyonları etkinliğini 24 saat devam ettirir, bu nedenle günlük taze solüsyonlar hazırlanmalıdır (20).

Hepatit B virusu (HBV) 42 nm çapında lipid bir zarf içeren DNA virüsüdür. Oldukça stabil olup, oda ısısında 6 aydan daha fazla canlı kalabilir. Serum içinde 30-32°C'de 6 ay, -20°C'de ise yıllarca canlılığını korur. HBV ile kontamine materyalin sterilizasyonu veya dezenfeksiyonu için birçok yöntem önerilmektedir. Isı ile dezenfeksiyon tercih edilen yöntemlerden biridir. 100°C'de 10 dakika kaynatma, otaklavda (121°C'de 15 atmosfer basınçta ve 103 kPa'da) 15 dakika veya kuru ısıda (160°C'de) iki saat süreyle tutulduğunda HBV inaktive olur. Kimyasal ajanlardan % 0.5-1.0'lik sodyum hipoklorit (5000-10.000 ppm klorin/litre) solüsyonunun 30 dakikada HBs antijenitesini yokettiği gösterilmiştir (20).

2.6. ÇAMAŞIR SUYUNUN TARİHÇESİ

Keten bezlerin beyazlatılması, eski çağlarda Yunanlılar, Romalılar, Mısırlılar ve Fenikeliler arasında bilinmektedir; fakat bunun nasıl başarıldığı tam olarak açık değildir. Modern çamaşır suları geliştirilmeden önce, kumaşlar genellikle bir dizi tekrarlanan kaynatma ve kül suyu, üre, potas, sülfürik asit ve yağı alınmış süt içeren asidik ve alkali maddelerle ıslatma işlemleri ile beyazlatılırdı. Keten bezi genellikle güneş ışığına maruz bırakılarak beyazlatılırdı.

MÖ 5000: Mısırlılar giyecekleri beyazlatmak için yıkayıp güneşte kurutmadan yararlanırlardı.

MÖ 3000: Çamaşır suları çoğunlukla tahta küllerinden türetilirdi. Suyla karıştırılarak kül suyu oluşturulurdu. Eğer çamaşırlar belirli süre kül suyu ile ıslatılır ve güneşte kurutulursa mükemmel bir beyazlık elde edilirdi. İşlem kumaş üzerinde zararlı bir sonuç oluşturmayacak şekilde gözle takip edilerek tekrarlanırdı.

MS 1000-1200: Hollandalılar, Avrupa toplumunun çamaşır uzmanı oldular. Sırlarını açıklamaksızın, tahriş edici etkisini azaltmak için ekşimiş sütü, kül çözeltilisine eklediler. Bu, ıslatma ve güneşte kurutmanın, kül suyunun tek başına kullanıldığı zamanlara göre daha fazla tekrarlanabilme imkânı anlamına geliyordu. Fakat işlem 8 hafta sürüyordu ve çamaşırları güneşte kurutmak için serilecek geniş alanlar gerektiriyordu.

MS 1200: Çamaşır suyu (Bleach) kelimesi İngilizce sözlüklerde ilk kez yer aldı.

1756: Edinburglu bilim adamı Francis Home, ekşimiş süt yerine seyreltik sülfürik asitin beyazlatma süresini 12 saate kadar kısalttığını buldu.

1772: Almanya doğumlu İsveçli kimyacı Karl Wilhelm Scheele, modern çamaşır sularının ana maddesi olan kloru ilk kez keşfetti. Yaklaşık 40 yıl sonra İngiliz kimyacı Sir Humphrey Davy Yunanca'da yeşilimsi sarı kelimesinden türetilen "klor" ismini verdi.

1785: Evde kullanılan çamaşır suyundaki etken madde olan sodyum hipoklorit, Fransız kimyacı Claude Louis Berthollet tarafından bulundu. Berthollet'nin beyazlatıcısı kostik klorlu potas çözeltisi ile oluşturulmuştu ve ilk olarak 1789'da "Javel Suyu" olarak satıldı. Ancak her bir maddenin tam miktarının karışıma konulması zordu ve potas çok pahalı bir maddeydi.

1799: İskoçyalı kimyacı Charles Tennant, Berthollet'nin klor fikrini aldı, potas yerine kireçtaşı koydu ve etken beyazlatıcı olarak kalsiyum hipoklorit ($\text{Ca}[\text{OCl}]_2$) içeren ilk çamaşır tozunu yaptı. On yıl içinde, sadece çamaşırları değil, diğer ürünleri, özellikle yazı kâğıdını da beyazlatan çamaşır tozu bütün Avrupa'da yayıldı. Ancak toz çok fazla klor içerdiği için halâ çok pahalıydı.

1880: Louis Pasteur, sodyum hipokloritin mikrop öldürücü özelliği olduğunu belirledi.

1897: Sears Roebuck & Co. firması ürün kataloğuna beş ayrı çamaşır suyunu koydu.

1913: Oakland-Kaliforniya'da kurulu The Electro-Alkaline Co. firması geliştirdiği bir işlemle kostik soda çözeltisinin klorlanmasıyla türetilen sodyum hipoklorit (NaOCl) çamaşır suyunu yaptı.

1922: Şirketin ismi Clorox Chemical (şu anda The Clorox Co.) olarak değişti ve sodyum hipokloritli çamaşır suyu 1 pint (=1/8 galon≈0,47 litre)'lik şişelerde piyasaya verildi. Bundan sonra da çamaşır tozunun yerini hızla almaya başladı.

Bugün: Sodyum hipoklorit esaslı çamaşır suları büyük ölçüde çamaşır, temizlik ve suların mikroptan arındırılması alanında kullanılmaktadır (1).

2.7. İN VİTRO MİKRONÜKLEUS TEKNİĞİ

Radyasyona ve karsinojenik kimyasallara maruz kalındığı zaman kromozomlarda hasarların oluşması, fiziksel ve kimyasal ajanların ökaryotik hücrelerin genetik materyalinde büyük değişikliklere neden olduğunu gösterir (21).

Kromozom yapısının tam anlamıyla anlaşılmasına rağmen, kromozom anormallikleri DNA seviyesindeki hasarların belirtisidir, örneğin kromozom kırılmaları, DNA'daki çift iplik yapının tekrar tamir edilememesinden meydana gelebilir (22). Kromozom kaybı ve kromozomların hatalı ayrılışı (non-disjunction), kanserde ve yaşlanmada çok önemli olaylardır ve metafazdan önce iğ ipliklerinde, sentromerde ya da kromozom yapısındaki bozukluklarla ortaya çıkabilir (23-25).

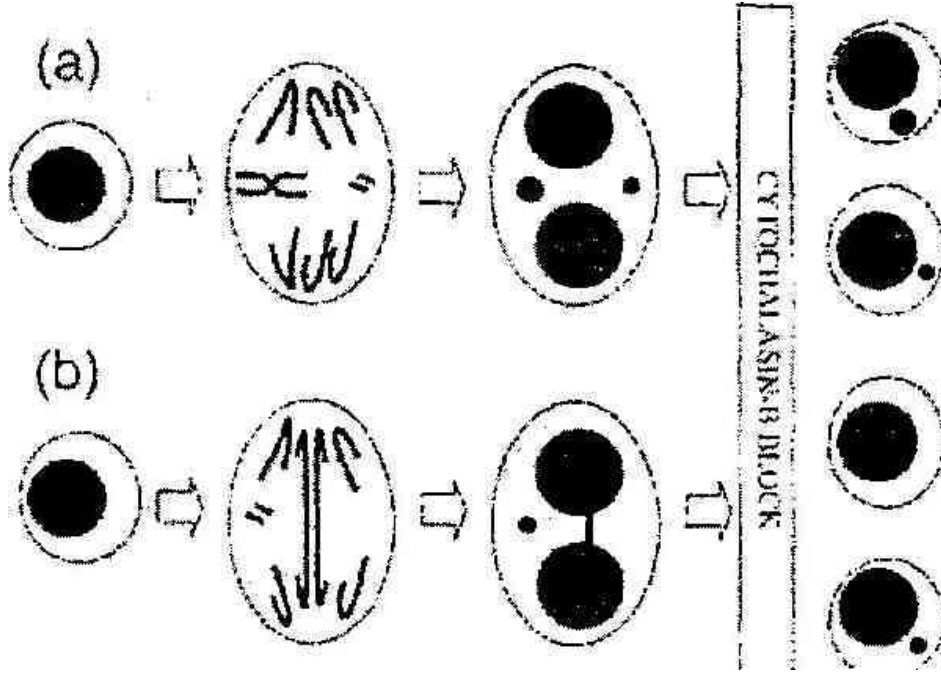
Klasik sitogenetik tekniklerde, metafaz evresindeki kromozomları gözleyerek ve anormallikleri sayarak kromozomlar incelenmektedir (26). Bu yaklaşım detaylı bir analiz yapılmasını sağlar ancak metafazdaki daha kompleks anormalliklerin birer birer sayılmasında yetersizlikleri vardır ve kromozom kusurlarını tespit etmede daha basit yeni metotlar geliştirilmiştir.

Schmid (27) ve Heddle (28) birbirinden bağımsız olarak in vivo kromozom kusurunu analiz etmek için alternatif ve daha basit bir yaklaşım ileri sürmüşlerdir. Bu yaklaşım, kemik iliği gibi bölünen hücrelerde, hematologlar tarafından Howell-Jolly badileri olarak bilinen, mikronükleusların (MNi) ölçümüdür. Kemik iliği ve periferal kanda bulunan eritrositlerde Mikronükleus (MN) testi, in vivo sitogenetik analizidir ve genetik toksikolojide kullanılmaktadır. Ancak in vivo veya in vitro olarak diğer hücre gruplarına uygulanabilir bir metot değildir ve in vitro çekirdekli hücrelerde MN'ları ölçmek için metotlar geliştirilmiştir.

MN'lar, mitoz sırasında kutuplara gidemeyen tüm kromozomlar yada sentromeri olmayan kromozom kırıklarını içeren bölünen hücrelerde görülebilir. Telofazda, geri kalan kromozomlar ve parçaları etrafında nükleer bir zar oluşur ve bu yapı hücrenin ana çekirdeğinden daha küçük olduğundan "mikronükleus (MN)" olarak adlandırılır (Şekil 2.1). Bundan dolayı, MN'lar hem kromozom kırılması hem de kromozom kaybının uygun ve güvenilir ölçümünü sağlar. MN'lar çekirdek bölünmesi tamamlandıktan sonra oluştuğu için, MN'lar hücre döngüsünün binükleer (iki çekirdekli, BN) safhasında ideal olarak ölçülür (29, 30). Bazen binükleer hücrelerde nükleuslar arasında nükleoplazmik köprüler gözlenmektedir. Bunlar olasılıkla disentrik kromozomlar olabilir. İki sentromer

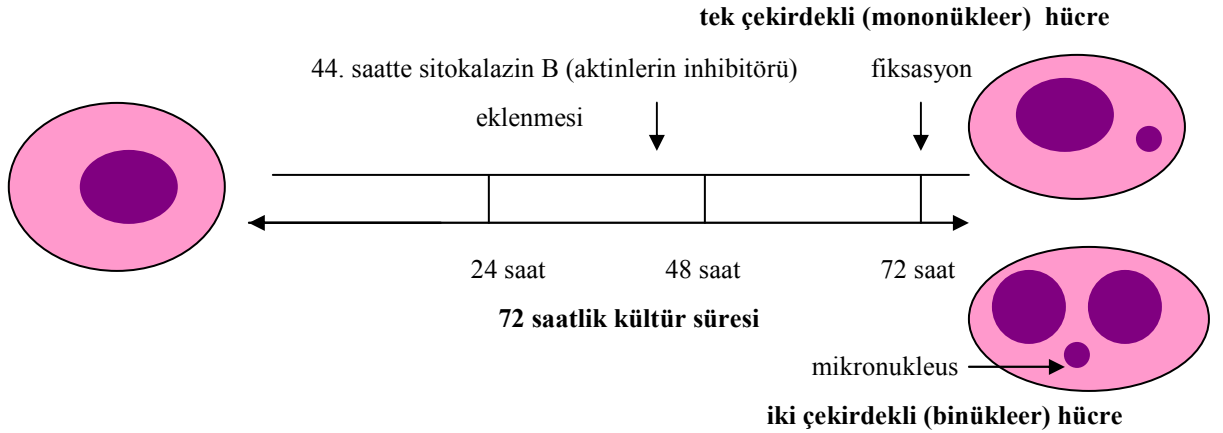
hücrenin karşı kutbuna çekilmekte ve DNA oluşan köprü sonucunda nükleer zarla etrafı çevrenmektedir (Şekil 2.1). Böylece binükleer hücrelerde nükleoplazmik köprüler mikronükleus hesaplanması yanısıra kromozom yeniden düzenlenmesinin tamamlayıcı ölçümüne olanak sağlar.

Bu analiz, bölünmeyen ya da hücre bölünme kinetiği tam olarak anlaşılammış ve kontrol edilemeyen bölünen hücre gruplarında etkili ve kantitatif olarak kullanılamayabilir. Sonuç olarak bir hücre popülasyonunda bölünmeyen ve mitoz geçiren hücreleri ayırt etmek için bir metodun geliştirilmesi gerekmektedir. Üstelik bir yada daha fazla nükleer bölünmeden sonra MN'ların akıbeti belirsiz olduğundan, bir nükleer bölünmeyi tamamlayan hücrelerin tanımlanması çok önemlidir.



Şekil 2.1. Mikronükleus oluşumu. (a) Mikronükleuslar, anafazda geri kalan kromozomlar ve asentrik kromozom parçalarından orjin alır. (b) Sentromerleri ile hücrenin karşı kutuplarına çekilen disentrik kromozomlardan nükleoplazmik köprü oluşumu; ve asentrik kromozom parçasından eş zamanlı olarak mikronükleusun oluşumu. Sitokalazin-B (Cyt-B), binükleer evrede hücre bölünmesini bloke eder. Bu şema, sadece 2 çift kromozumlu bir hipotetik hücre örneğini göstermektedir.

Stathmokinetik, flow sitometrik ve DNA etiketleme esasına dayanan birkaç metod önerilmiştir. Ancak kolaylığından dolayı sitokinez-bloklü mikronükleus (CBMN) metodu tercih edilmiştir (29-31).



Şekil 2.2. Sitokalazin-B kullanılarak iki çekirdekli (binükleer) hücre oluşumu.

CBMN analizinde, bir nükleer bölünmeyi tamamlayan hücreler, sitokalazin-B (Cyt-B) kullanılarak sitokinez bloke edilir ve bu hücreler binükleer hücreler olarak tanımlanır (Şekil 2.2). Cyt-B, sitokinez esnasında kardeş nükleuslar arasındaki sitoplazmayı daraltan mikrofilament halkasının oluşması için gerekli olan aktin polimerizasyonunun bir inhibitörüdür (32). Cyt-B'nin kullanılması, bölünen hücrelerin eş zamanlı derecesine ve oranına bakmaksızın bölünen hücre popülasyonunun binükleer evresinde bütün bölünen hücrelerin birikimine neden olur. MN'lar, sonra sadece binükleer hücrelerde skorlanır, böylece hücre bölünme kinetiğinde farklılıklar olan hücre popülasyonları arasında kromozom hasarlarının karşılaştırılmasında güvenilir bir metot olarak kullanılabilir. Başlangıçta bu metot kültüre edilen insan lenfositleri için geliştirilmiştir (29, 30). Ancak günümüzde solid tümör ve kemik iliği hücreleri gibi çeşitli hücre tiplerine de adapte edilmiş bir metottur (33, 34). Ayrıca yeni gelişmeler olmaktadır. Bu gelişmeler aşağıda verilmiştir: (a) kromozom parçalarından ve kromozomlardan orjin alan MN'ların ayırt edilmesi (35-40), (b) bir hücre bölünmesi içinde kesip çıkartılarak tamir edilen (eksizyon-tamiri) bölgelerin MN'lara dönüşmesi (41), (c) binükleer hücrelerde non-disjunction olaylarını tanımlamak için moleküler problemlerin kullanılması (42-44), (d) CBMN analizi içine nekrotik ve apoptotik hücrelerin katılması (45, 46).

Son olarak, yeni kimyasalların genotoksitesini test etmek için metafaz analizi yerine mikronükleus analizinin kullanılması önerilmektedir (47, 48).

2.7.1. İnsan Lenfositlerindeki Standart Sitokinez-Blok Mikronükleus Analizi

Bu metotta, fitohemaglutinin (PHA) stimulasyonunu takiben bir nükleer bölünmeyi tamamlayan hücrelerdeki MN'lar sayılır. Cyt-B, ilk mitotik bölünmeden önce eklenmelidir ve Cyt-B ile sitokinez bloke edildikten sonra BN hücreler oluşmaktadır. Optimal kültür koşulları, PHA stimulasyonundan sonra 72 saatte canlı hücrelerin oranı (nekrotik ve apoptotik hücreler hariç) olarak %35-60 veya daha fazla BN hücreler elde edilmektedir. Bu prosedürde kullanılan solusyonlar ve araçlar steril edilmelidir (49).

İnsan Lenfositleri İçin Kan Kültürü: İnsan lenfositlerinde, CBMN analizi tam kan kültürü kullanarak da gerçekleştirilebilir. 0.4-0.5 ml tam kan, fetal kalf serum, L-glutamin, antibiyotik ve PHA ile desteklenmiş 4.5 ml kültür ortamına eklenir. Cyt-B, PHA stimulasyonundan sonra 44. saatte eklenir. Binükleer hücrelerinin biriktiği Cyt-B'nin optimal konsantrasyonu, tam kan kültüründe 6 µg/ml'dir (49). Binükleer lenfositler, Cyt-B eklendikten 28 saat sonra, kırmızı kan hücrelerini parçalamak için 0.075 M KCl ile muamele edilir ve lama aktarmadan ve boyanmadan önce metanol: asetik asit ile fikse edilir (smear hücrelerinde lamlar kuruduktan sonra fikse edilir). Alternatif olarak, Ficoll gradienti kullanılarak tam kan kültüründen binükleer lenfositleri izole etmek mümkündür. İzole edilen hücreler daha sonra sitosantrifugasyon ile lamlara transfer edilir. Sonra hücreler fikse edilir ve boyanır.

2.7.2. Sitokinez-Bloklı ve Sitokinez-Bloksuz Hücrelerdeki Mikronükleus Analizi

Binükleer hücreleri elde etmek için kullanılan Cyt-B'nin MN oluşumunda bazı karışıklıklara sebep olduğu ile ilgili bazı tartışmalar vardır (48). Normal hücrelerle yapılan çalışmalarda Cyt-B'nin MN'ları indüklediği veya sitokinezde hücreleri bloke etmek için kullanılan dozlardaki binükleer hücrelerde MN frekansı ile Cyt-B'nin doza bağlı etkisi olmadığı gösterilmiştir (30, 50-52). Son bir çalışmada sitokinez-bloke edilen binükleer hücrelerde iç ipliği zehirleri tarafından indüklenen MN oluşumunun beklenenden daha az olduğu öne sürülmüştür, çünkü kutuplar arası mesafenin kısalması geri kalan kromozom parçaları ya da tam kromozomların nükleusa geri katılma olasılığını artırabilir. Fakat bu CBMN analizinin etkinliğini azaltmaz (53).

Hücre bölünme kinetiğinin yetersiz kontrollerinden dolayı yanlış negatif sonuçlardan kaçınmak ve Cyt-B'nin olası etkisini en aza indirmek için Cyt-B kullanmadan in vitro MN analiziyle ilgili araştırmalara ilgi artmıştır. Normal hücrelerde CBMN analiziyle

elde edilen hatalı bir pozitif sonucun kanıt olmamasına karşın, zaten Cyt-B kullanılan insan lenfosit kültürlerindeki MN indüksiyonu ile ilgili MN analizi için yeterli kanıt vardır (30, 31, 54). Yine de; Cyt-B'li veya Cyt-B'siz karşılaştırmalı son MN çalışmaları, eğer iyi büyüyen hücreler kullanılırsa kültür ve çekirdek bölünme koşulları en iyi seviyede olursa, güçlü klastojenler test edildiği zaman Cyt-B'li ve Cyt-B'siz MN analizleri arasındaki sonuçlarını karşılaştırmanın mümkün olduğunu göstermiştir (55, 56). MN oluşumunun matematiksel modeli, 1. BN hücrelerdeki MN sayımı mikronükleus frekansının belirlenmesinde güvenilir bir yoldur ve 2. sitokinez-blok olmadan yapılan kültürlerdeki mononükleer (tek çekirdekli) hücrelerde MN sayım, test edilen kimyasal çekirdek bölünmesini inhibe ettiğinde veya kültür koşulları optimal sayıda hücre bölünmesine izin vermediğinde yanlış negatif sonuçlar ortaya çıkarabilir (57). Sonuç olarak, Cyt-B'siz kültürlerdeki mononükleer hücrelerdeki mikronükleusların sayılmasıyla elde edilen mikronükleus frekansı sonuçları, yanlış negatif sonuçlardan dolayı CBMN analizi kullanılarak doğrulanmalıdır.

2.7.3. Mikronükleus ve Non-disjunction'daki Kromozom Kaybını Ölçmek İçin Geliştirilen Moleküler Teknikler

CBMN analizinde, MN'ların tam kromozomlardan mı yoksa asentrik parçalardan mı köken aldığını ayırt etmek, sentromerik DNA propları ya da kinetokor proteinlerine (aktif kromozomların sentromerik bölgesinde toplanan) bağlanan antibadiler kullanarak mümkündür. İnsan hücrelerinde veya diğer hücre tiplerinde kromozom büyüklükleri heterojen olduğundan ve küçük bir MN ya büyük bir kromozomun parçasını ya da küçük bir kromozomun tümünü içerebildiğinden, MN büyüklüğü bu ayırım için kullanılamaz. Kullanım açısından anti-kinetokor antibadi metodu en basit ve ucuz bir tekniktir (58), ancak bu yaklaşımla tek olan kromozomlar arasında ayırım yapılamaz ve inaktif sentromerler üzerinde kinetokorların olmamasından dolayı kromozom kaybı belirlenemeyebilir (59). Sentromerik bölgeleri tanımlamak için kullanılan in situ hibridizasyon (ISH) yöntemi çok pahalı ve zahmetlidir, ancak daha spesifiklik sağlar. Örneğin, tek kromozomlar için sentromerik proplar kullanılabilir, bu proplar BN hücrelerde non-disjunctional (ayrılmama) olayların (yavru nükleuslarda homolog kromozomların eşit dağılmaması gibi) belirlenmesine olanak sağlar (60).

2.8. SODYUM HİPOKLORİT VE GENOTOKSİSİTESİ

Klorlama, içme suyunu dezenfekte etmek için dünya çapında yaygın olarak kullanılmaktadır. Ancak, bu işlem patojenik mikroorganizmalara karşı koruma sağlarken, diğer taraftan suyun dezenfeksiyonu haloalkanlar, haloasetik asitler, haloasetonitriller, haloketonlar ve haloaldehitler gibi oldukça yüksek derecede toksik yan ürünler oluşturabilmektedir (61). Bu bileşikler, klorun yüzey sularında normal olarak bulunan humik ve fulvik asitle reaksiyonları sonucunda oluşur (62). İçme suyunu dezenfekte etmek için dezenfektan olarak kullanılan sodyum hipoklorite, ratların uzun süreli maruz kalması sonucunda, dişi ratlarda löseminin geliştiği gösterilmiştir (63). Bazı epidemiyolojik çalışmalar, klorlu içme suyunun tüketilmesi ve üriner ve gastrointestinal bölge gibi çeşitli kanserlerin gelişimi arasında bir bağlantı olduğunu öne sürmektedir (64, 65). Üç içme suyu dezenfektanına (sodyum hipoklorit, klorin dioksit, ve perasetik asit) in situ olarak maruz kalan *Cyprinus carpio* balıklarının eritrositlerindeki MN frekanslarının değerlendirildiği bir çalışmada, sodyum hipoklorit ve klorin dioksit kullanımının karsinogenik zararlı yan ürünler oluşturabileceği ve genetik hasarın indüklendiği önerilmiştir (66). Benzer şekilde, bu dezenfektanlara maruz kalmış *Cyprinus carpio* balıklarının eritrositlerinde comet assay ve MN frekansı ile mutajenite ve genotoksitenin değerlendirildiği başka bir çalışmada da, DNA hasarı ve mutajenitenin indüklendiği gösterilmiştir (67). Çeşitli dezenfektanlarla muamele edilmiş su örneklerinin sağlıklı kişilerden alınan kan örnekleri üzerinde in vitro olarak etkisi araştırıldığında, kültüre edilmiş insan beyaz kan hücrelerinde MN frekansının artmadığı ancak çalışmada kullanılan örneklerin sitotoksik olduğu bulunmuştur (68).

Ayrıca, sodyum hipoklorit diş antiseptiği olarak da kullanılmaktadır; ve yapılan çalışmalarda, Suriye hamster embriyo (SHE) hücrelerinde sitotoksik olduğu, kromozomal aberasyonlara sebep olduğu ve kardeş kromatid değişimi (sister chromatid exchange; KKD) frekanslarını artırdığı gösterilmiştir (69-71).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. GEREÇLER

Demirbaş Malzemeler

1. Etüv (Heto/ Cell Hause 200)
2. Su banyosu (Thermal)
3. Vorteks (Janke & Kunkel VF2)
4. Mikroskop (Nikon Labophot 2, Olympus model CHK)
5. Santrifüj (ALC PK 110 ve NuveNF 815)
6. Hassas terazi (Kern S 2000)
7. Derin dondurucu
8. Buzdolabı
9. Dengeleme terazisi
10. Otomatik pipet
11. Fotomikroskop (Olympus BH-2)

Sarf Malzemeler

1. Ham's F10 (Biological Industries, B101-090-IB)
2. L-Glutamin (Biological Industries, B103-020-1C)
3. Fetal calf serum (Biological Industries, B104-001- IB)

4. Fitohemagglutinin (Biological Industries, B1 -12-006-1H)
5. Penisilin-Streptomisin (Sigma, 03-031 -1C)
6. Sitokalazin-B (Sigma, C-6762)
7. Heparin (Nevparin, Mustafa Nevzat İlaç Sanayi)
8. Giemsa (Merck, 5400512)
9. KH_2PO_4 (merck, 9021622)
10. $\text{Na}_2\text{HP0}_4\text{H}_2\text{0}$ (Merck, K1 690176)
11. Glasiyal asetik asit (Merck, 247K18855556)
12. Metanol (Merck, 502K05275408)
13. Ksilol (Merck, 207K037553)
14. Entellan® (Merck, 640171987)
15. İmmersiyon yağı® (Merck, 09403569)
16. KCL (Merck, 340TA611835)
17. Alkol (%96'lık Tekel)
18. Distile su
19. Tüplük
20. Çeşitli cam malzemeler
21. Konik tabanlı 10ml'lik steril kültür tüpü
22. Enjektör
23. Çeşitli ebatlarda puarlar
24. Pastör pipeti
25. Lam (Geschliffen-Mattarant, objectrager 76x26 mm)
26. Lamel (Menzel-Glasser 24x32)

3.2. YÖNTEM

Çalışma Grubu

Çalışma, temizlik malzemeleri üreten bir fabrikanın çamaşır suyu ünitesinde çalışan, içerisinde sodyum hipoklorit bulunan bu çamaşır suyuna uzun süre (2.5 – 11.5 yıl) maruz kalmış 7 işçi (erkek) ve yaşları, ekonomik ve sosyal konumları maruz kalmış işçilere yakın olan 7 sağlıklı kişi (erkek) üzerinde yapıldı. Çalışmaya katılan işçilere ve kontrol kişilere çalışmanın amacı anlatıldı ve yazılı onayları alındı.

Mikronükleus Elde Etmek için Kullanılan Yöntem

Mikronükleus yöntemi, periferik kandan kromozom analizi yapmak için kullanılan yöntemin (kültür ortamının hazırlanması, örneklerin alınması, ekim yapılması) aynıısı olup sadece çıkarım ve preparat hazırlama işlemlerinde farklılıklar vardır. Ayrıca 44. saatte Sitokalazin-B (Cyt-B) eklenmiştir (72).

1. Kültür Ortamının (Besiyeri) Hazırlanması

Kullanılan malzemeler ve miktarları;

<u>Malzeme</u>	<u>Miktarı</u>
Ham's F10	100 cc
L-glutamin	5 cc
Fitohemaglutinin	2,5 cc
Fetal calf serum	3 3 cc
Penisilin-streptomisin	1 cc
Heparin	1 cc

Besiyeri, steril ortamda 100 cc'lik Ham's F10 içine yukarıdaki diğer malzemeler eklenip, elle yavaş bir şekilde bir kaç kez karıştırılarak hazırlandı. Hazırlanan medyum yine steril ortamda 5'er cc olmak üzere steril vidalı kapaklı konik tabanlı kültür tüplerine bölünüp, 10-15 dakika laboratuvarında bekletildikten sonra kan örneklerinin ekimi yapıldı yada -20 °C'de dondurularak saklandı.

2. Kan Örneklerinin Alınması

Sodyum hipoklorite maruz kalmış ve kontrol kişilerden, 5 ml'lik steril ve 0.1- 0.2 cc heparin içeren enjektörler kullanılarak periferik kan örnekleri alındı. Daha sonra kan örneklerinin bekletilmeden kültür ortamlarına ekimi yapıldı.

3. Kültür Tekniği

Önceden 37 °C'ye getirilmiş olan 5 cc medyum içeren kültür tüplerine steril ortamda, alınan kan örneklerinin 3-4 damlası dışarı atıldıktan sonra 12 damla (~0.4 ml) kan ilave edildi. Tüplerin üzerine işçi ve kontrol kişilerin adı yazıldı ve her bir kişi için 2 tüpe ekim yapıldı. Tüpler hafifçe karıştırılarak 37 °C'lik etüvde 44. saatte Cyt-B eklenmek koşuluyla 72 saat kültüre edildi.

1 mg Cyt-B (Sigma, 6762) 5 ml dimetil sülfoksit'te çözdürülerek hazırlandı. Çıkarımın 44. saatinde kültür tüpleri etüvden çıkartılarak steril ortamda her bir tüpe 75 µl (final konsantrasyonu: 3µg/ml) Cyt-B ilave edilerek tekrar etüve konuldu.

4. Çıkarım İşlemleri

Umegaki ve arkadaşlarının MN elde etmek için çalışmasında kullanılan Balasem ve Ali metoduna göre çıkarım işlemleri yapıldı (73, 74).

- 0.1 M hipotonik solüsyonu, 1.864 g KCL tartılıp distile su ile 250 ml'ye tamamlanarak hazırlandı.
- 1. 72 saat inkubasyondan sonra kültür tüpleri etüvden çıkartılarak 1000 rpm'de 9 dakika santrifüj yapıldı.
- 2. Dipte 0.6-0.7 ml kalıncaya kadar üstteki supernatantlar atıldı.
- 3. Daha sonra hücelere laboratuvar ısısında beklemiş, olan 0.1 M hipotonik solüsyonundan 6 ml eklenerek 4 dakika laboratuvar ısısında bekletildi.
- 4. Hücreler hipotonik solüsyonunda bekletildikten sonra 9 dakika 1000 rpm'de santrifüj edildi.
- 5. Süpernatantları atılıp üzerine taze hazırlanmış soğuk fiksatiften 6 ml (3:1, metanol: glacial asetik asit) yavaşça damla damla ilave edilip bekletmeden 9 dakika 1000 rpm'de santrifüj yapıldı.
- 6. Süpernatantların tekrar atılıp üzerine aynı fiksatiften 6 ml ilave edilip, 9 dakika 1000 rpm'de santrifüj edildi.
- 7. Dipte 0.7 ml fiksatifli hücre bırakılarak süpernatantları tekrar atıldı ve bir gün buzdolabında (+4 °C) bekletildi.

5. Preparat Hazırlama

Lamlar temizlenerek, içinde %70'lik metanol bulunan şaleye yerleştirilip soğuyuncaya kadar buzdolabı buzlukunda bekletildi. Daha sonra şaleden çıkarılan lamlar iyice kurulandı. Pastör pipeti ile fiksatifli hücre içeren kültür tüplerine pipetaj yapılarak hücre süspansiyonundan pastör pipeti yardımıyla lamlara yakın mesafeden (1-2 cm yukarıdan) 9- 10 damla damlatıldı. Lamlara kuvvetlice üflenerek hücrelerin lam üzerine iyice dağılması sağlandı ve kurumaya bırakıldı. Her kültür tüpü için ayrı pastör pipeti kullanılarak farklı preparatlar hazırlandı ve lamlar ayrı ayrı kodlandı.

6. Preparatların Boyanması ve Saklanması

Sorenson boya tamponu (pH=7.0):

Sorenson boya tamponu 5.26 g KH_2PO_4 ve 8.65 g $\text{Na}_2\text{HP0}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ tartılıp distile su ile 1000 ml'ye tamamlanarak hazırlandı.

95 ml Sorenson boya tamponu üzerine 5 ml giemsa boyası eklenerek giemsa boyası hazırlandı.

Kurumuş olan preparatlar yeni hazırlanan % 5'lik giemsa 6 dakika boyandıktan hemen sonra 2 kez distile su ile yıkanarak kurumaya bırakıldı. Kuruyan preparatlar ksilolden geçirildikten sonra kanada balsamı (entellan) damlatılarak lamelle kapatıldı.

7. Lamların İncelenmesi ve MN Sıklığının Değerlendirilmesi

Lamlar en iyi 1000X'lik büyütmede incelenir. Lamlar ışık veya floresans mikroskopta bakılabilir. Lamlar analizden önce numaralandırılmalıdır. Her bir duplike kültürden alınan lamlar için bir skor elde edilmelidir. Her bir preparat aşağıdaki bilgileri içermelidir (72):

1. MN'ların sayısı, en azından 1000 BN hücrede sayılmalıdır ve 1000 BN hücre başına MN frekansı hesaplanmalıdır. BN hücrede MN'ların sayılmasında kullanılan kriterler detaylı bir şekilde aşağıda açıklanmıştır.
2. Sıfır, bir veya daha fazla MN içeren BN hücre dağılımı; tek bir BN hücrede MN sayısı normalde sağlıklı bireylerin lenfositlerinde 0 ila 3 arasında değişmektedir ancak maruz kalınan genotoksine ve yaşa bağlı olarak 3'den fazla olabilir.
3. Mikronükleuslu BN hücrelerinin frekansı, en azından 1000 BN hücrede bulunmalıdır.
4. 1000 BN hücrede nükleoplazmik köprü frekansı hesaplanmalıdır.
5. 500 hücre başına tek çekirdekli (mononükleer), iki çekirdekli (binükleer), üç çekirdekli (trinükleer) ve dört çekirdekli (tetranükleer) hücrelerin oranı hesaplanmalıdır. Bu bilgiye dayanarak çekirdek bölünme indeksi oluşturulabilir.
6. Canlı ya da apoptoz veya nekrozdan dolayı ölen hücrelerin sayısı, aynı preparat üzerinde 500 hücre başına tek-, iki- ve çok- çekirdekli hücreler sayılırken sayılabilir.

Hücreler sayılırken, hücre tanımlanamadığında skorlanan hücrelere dahil edilmez.

8. Sitokinezi Bloke Edilmiş Binükleer Hücreleri Tanımlama Kriterleri:

MN frekansı değerlendirilecek olan sitokinezi bloke edilmiş hücreler aşağıdaki kriterleri içermek zorundadır (72).

1. Hücreler binükleer (iki çekirdekli) olmalıdır.
2. Binükleer hücredeki iki çekirdeğin boyutu yaklaşık olarak aynı olmalı ve yoğun boyanmalıdır.
3. Binükleer hücredeki iki çekirdek nükleoplazmik bir köprü ile bağlanabilir. Bu nükleoplazmik köprü çekirdek çapının 1/4 'ünden büyük olmamalıdır.
4. Binükleer hücredeki iki çekirdek birbirine temas edebilir, ancak ideal olarak birbirinin üzerine çıkmamış olmalıdır. İki çekirdeği üst üste çıkmış olan bir hücre eğer her bir çekirdeğin çekirdek sınırları ayırt edilebiliyorsa sayılmalıdır.
5. Binükleer hücrenin sitoplazmik sınırı yada zar yapısı bozulmamış olmalı ve komşu hücrelerin sitoplazmik sınırından açıkça ayırt edilebilmelidir.

9. Mikronükleus Sayma Kriterleri

MN'Iar morfolojik olarak çekirdek ile aynı ancak çekirdekten daha küçüktür. MN özellikleri aşağıda belirtilmiştir (72):

- a) İnsan lenfositlerindeki MN'ların çapı, genellikle ana çekirdeğin ortalama çapının 1/16 ve 1/3'ü arasında değişmektedir.
- b) MN'Iar kırılğan olmamalıdır ve böylece boyanan partiküller gibi artefaktlardan kolayca ayırt edilebilir.
- c) MN'Iar ana çekirdekle birleşmiş veya bağlantılı olmamalıdır.
- d) MN'Iar ana çekirdeğe temas edilebilir ancak üstüne binmiş olmamalıdır ve mikronükleer sınır çekirdek sınırından ayırt edilebilir olmalıdır.
- e) MN'Iar genellikle ana çekirdekle aynı yoğunlukta boyanmalıdır, ana çekirdek bazen daha yoğun (koyu) boyanabilir.
- f) Hücrelerin 6 tane MN'dan daha fazlasını içermemesi gerekir.

10. Mikronükleus Sayımı

Sayılan çekirdeklerin tekrar sayılmaması için ışık mikroskopunda 400X büyütmede sitoplazması dağılmayıp sınırları belli olan çekirdekler belirlendi ve sadece bunlar sayıldı. Hem sodyum hipoklorite maruz kalmış işçi hem kontrol kişiler için duplike olarak yapılan kültürlerden hazırlanan preparatlarda 1000 BN hücre sayıldı ve

mikronukleuslar kaydedildi. Aynı zamanda, her bir kişi için, 500 mononükleer (tek çekirdekli) hücre başına binükleer (iki çekirdekli), trinükleer (üç çekirdekli) ve tetranükleer (dört çekirdekli) hücrelerin sayısı da kaydedildi ve çekirdek bölünme indeksi (NDI) hesaplandı (72).

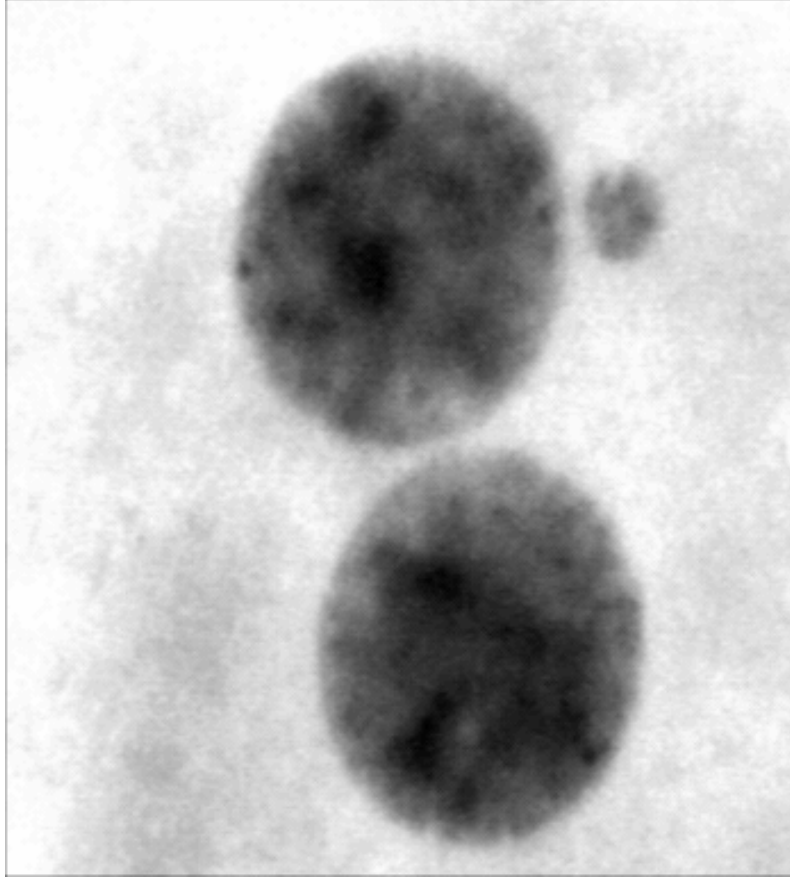
$$NDI = [M1+2(M2)+3(M3)+4(M4)] / N$$

M = Nükleus Sayısı

N = Total Canlı Hücre Sayısı

11. İstatistiksel Değerlendirme

Maruz kalmış ve kontrol kişilere ait MN ve NDI değerleri istatistiksel olarak non-parametrik testlerden Mann-Whitney U testi ile karşılaştırıldı. Ayrıca her iki grubun MN değerlerinin, yaş ve maruz kalma süreleri ile ilişkisi Spearman's rho korelasyon analizi ile değerlendirildi. Veriler, ortalama±standart sapma ve ortanca (min-max) olarak verildi. P değeri < 0.05 olduğunda anlamlı kabul edildi.



Resim 3.1. MN'lu binükleer (BN) hücre

4. BULGULAR

Sodyum hipoklorite maruz kalan hastalar (7 kişi) ve kontrol olarak seçilen kişilerden (7 kişi) alınan kan örnekleri materyal ve metotta belirtilen yöntemlere göre hazırlanan kültür ortamına ekilmiştir. Bu kültür ortamlarından hazırlanan preparatlar ışık mikroskobu yardımıyla MN frekansı için değerlendirilmiştir.

Sodyum hipoklorite maruz kalan hastaların yaş aralığı 26-47 ve kontrol grubundaki kişilerin yaş aralığı 26-48 arasında değişmektedir. Sodyum hipoklorite maruz kalan hastaların yaş ortalaması 36.57 ± 8.12 ve kontrol grubundaki kişilerin yaş ortalaması 36.28 ± 8.38 'dir (Tablo 4.1. ve 4.2.). Sodyum hipoklorite maruz kalan hastaların ve kontrol grubundaki kişilerin tümü erkektir. Sodyum hipoklorite maruz kalmış işçilere ve kontrol grubundaki kişilere ait lenfositlerindeki total binükleer hücre sayıları, MN'lu binükleer hücre sayıları, total MN sayısı, MN frekansı (%), yaşları, sigara kullanıp kullanmadığı ve NDI değerleri sırası ile Tablo 4.1. ve Tablo 4.2.'de gösterilmiştir. Sodyum hipoklorite maruz kalan hastaların MN değerleri ortalaması 1.70 ± 0.33 ve kontrol kişilerin MN değerleri ortalaması 0.75 ± 0.27 olarak bulunmuştur. Sodyum hipoklorite maruz kalan kişilerle kontrol olarak seçilen grubun MN frekansları Mann-Whitney U testine göre karşılaştırıldığında, MN değerleri arasındaki farkın anlamlı olduğu bulunmuştur ($p=0.002$). Her iki grup, binükleer hücredeki MN sayıları açısından değerlendirildiğinde, sodyum hipoklorite maruz kalan hastalarda 2 MN'lu binükleer hücreler gözlenirken kontrol kişilerde gözlenmemiştir ve kontrol grubunda bulunan MN'ların tümü 1 MN'lu binükleer hücrelerdir (Tablo 4.1 ve 4.2).

Tablo 4.1. Sodyum hipoklorite maruz kalmış işçilerin lenfositlerindeki total binükleer hücre sayıları, MN'li binükleer hücre sayıları, total MN sayısı, MN frekansı (%), yaşları, sigara kullanıp kullanmadığı, maruz kalma süreleri, ve NDI değerleri

	Yaş	Sigara	Maruz Kalma Süreleri (yıl)	İncelenen Binükleer Hücre Sayısı	Total MN Sayısı	1 MN'li Binükleer Hücre Sayısı	2 MN'li Binükleer Hücre Sayısı	MN Frekansı (%)	1 Nükleuslu Hücre Sayısı (~500)	2 Nükleuslu Hücre Sayısı	3 Nükleuslu Hücre Sayısı	4 Nükleuslu Hücre Sayısı	Çekirdek bölünme İndeksi (NDI)
1	26	+	2.5	1007	20	16	2	1.99	528	125	9	3	1.23
2	40	+	11	1005	21	19	1	2.09	500	115	1	4	1.21
3	47	+	3	1002	18	18	-	1.80	512	95	4	2	1.18
4	31	-	5	1001	16	16	-	1.60	504	203	8	2	1.31
5	46	-	5	1067	20	20	-	1.87	525	135	11	6	1.26
6	36	+	11.5	1046	13	13	-	1.24	514	93	3	2	1.17
7	30	+	10	1003	13	11	1	1.30	502	60	-	1	1.11
Ort±SS	36.57 ± 8.12							1.70 ± 0.33					1.21 ± 0.007
Ortanca (min-max)								1.80 (1.24-2.09)					1.21 (1.11-1.31)

MN : Mikronükleus

SS :Standart Sapma

Total MN Sayısı: (1MNx1) + (2MNx2)

NDI = $[M1+2(M2)+3(M3)+4(M4)] / N$

M = Nükleus Sayısı

N = Total Canlı Hücre Sayısı

Tablo 4.2. Kontrol grubundaki kişilerin lenfositlerindeki total binökleer hücre sayıları, MN'lu binökleer hücre sayıları, total MN sayısı, MN frekansı (%), yaşları, sigara kullanıp kullanmadığı ve NDI değerleri

	Yaş	Sigara	İncelenen Binökleer Hücre Sayısı	Total MN Sayısı	1 MN'li Binökleer Hücre Sayısı	2 MN'li Binökleer Hücre Sayısı	MN Frekansı	1 Nükleuslu Hücre Sayısı (~500)	2 Nükleuslu	3 Nükleuslu	4 Nükleuslu	Çekirdek bölünme İndeksi (NDI)
1	26	+	1009	3	3	-	0.30	521	280	6	6	1.38
2	38	+	1016	6	6	-	0.59	520	211	10	-	1.31
3	46	+	1007	7	7	-	0.70	519	180	5	1	1.27
4	30	-	1026	9	9	-	0.88	525	187	7	1	1.28
5	48	-	1015	8	8	-	0.79	506	405	11	9	1.49
6	36	+	1017	8	8	-	0.79	547	332	8	6	1.41
7	28	+	1029	12	12	-	1.17	517	140	8	7	1.26
Ort±SS	36.28 ± 8.38						0.75 ± 0.27					1.34 ± 0.009
Ortanca (min-max)							0.79 (0.30-1.17)					1.31 (1.26-1.49)

MN : Mikronükleus

SS :Standart Sapma

NDI = $[M1+2(M2)+3(M3)+4(M4)] / N$

M = Nükleus Sayısı

N = Total Canlı Hücre Sayısı

Maruz kalmış işçi (1.21 ± 0.007) ve kontrollerin (1.34 ± 0.009) NDI değerleri Mann Whitney U testine göre karşılaştırıldığında aralarındaki farkın anlamlı olduğu bulunmuştur ($p=0.009$) (Tablo 4.1 ve 4.2).

Maruz kalan işçiler ve kontrol kişilerdeki sigara içen ve içmeyen kişiler kendi aralarında Mann Whitney U testine göre karşılaştırıldığında aralarındaki fark anlamlı bulunmamıştır ($p>0.05$).

Maruz kalan işçi ve kontrollerin MN değerleri ile yaşları ve maruz kalma süreleri Spearman Rho korelasyon analizine göre değerlendirildiğinde anlamlı bir ilişki bulunamamıştır. (Maruz kalan işçilerin yaşları için $r = 0.143$ ve $p = 0.760$; kontrol kişilerin yaşları için $r = 0.054$ ve $p = 0.908$ ve Maruz kalan işçilerin maruz kalma süreleri için $r = 0.396$ ve $p = 0.379$).

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Çamaşır suları 2 sınıfa ayrılır. İlki “Klorlu çamaşır suları”, ikincisi “Oksijenli çamaşır suları”dır. Evde kullanılan çamaşır suyu, çamaşırını beyazlatmak, kirlerini çıkartmak ve mikroplardan arındırmak için kullanılır. Çamaşır suyunun etken maddesi olan sodyum hipokloritin oranı % 5.25’dir; Sanayide daha yoğun olan tipleri de kullanılmaktadır. Klorlu çamaşır suları genellikle mikrop öldürücü olarak kullanılır. Çamaşır suyunun amonyak içeren temizleyicilerle karışımı veya idrar temizlemek için çamaşır suyu kullanımı zehirli klor gazları çıkarabilir ve azot triklorit denilen bir patlayıcı oluşturabilir. Çamaşır suları mikrop öldürücü ve koku giderici olarak da kullanılır. Oksitleyici çamaşır suları hücre zarlarına ve hücre proteinlerine etki ederek mikropları öldürür. Evlerde ve hastahanelerde bu amaçla en yaygın kullanılan sodyum hipoklorittir. Kalsiyum hipoklorit, içme suları ve yüzme havuzlarının mikroplardan arındırılması için kullanılır. Bazı beyazlatıcılar çok kötü kokarlar. Bazıları ise, limon suyu ve güneş ışığı gibi serinleticidir. Dişler için kullanılan beyazlatıcılar genellikle sodyum karbonat peroksit içerir. Hidrojen peroksit (H₂O₂), daha çok saçların ve pamuklu giysilerin ağartılmasında kullanılır. Oksijen ve klor kökleri belirgin şekilde beyazlatma etkisine sahiptirler. Derideki lekeleri gidermek için kullanılan beyazlatıcılar bundan önce bahsedilen beyazlatıcılardan farklıdır. Etken madde “hidrokuinon”dur. Kuru meyvelerin beyazlanmasını azaltmak için sülfür dioksitten yararlanır (1).

Ayrıca, içme sularının dezenfeksiyonu için kullanılan en yaygın yöntemlerden biri de klorlama işlemidir ve genellikle üç dezenfektan (sodyum hipoklorit, klorin dioksit, ve perasetik asit) ile klorlama yapılmaktadır. Ancak, bu işlem patojenik mikroorganizmalara karşı koruma sağlarken, diğer taraftan haloalkanlar, haloasetik asitler, haloasetonitriller, haloketonlar ve haloaldehitler gibi oldukça yüksek derecede toksik yan ürünler oluşturabilmektedir (61). Bu bileşikler, klorun yüzey sularında normal olarak bulunan organik bileşiklerle (humik ve fulvik asitler) yada sudaki mevcut kirlilik ile reaksiyonları sonucunda oluşur ve bu dezenfeksiyon işlemi mutajenik/karsinojenik dezenfeksiyon yan ürünlerinin oluşumunda sonuçlanmaktadır (62, 75). Klorlu su bakteriler için mutajeniktir (76) ve memeli hücreler üzerinde genotoksik etkiyi indükler (77, 78). Epidemiyolojik çalışmalar, klorlu içme suyunun tüketilmesinin bazı spesifik insan kanserlerinin insidansının ve ölü doğum riskinin artışı ile ilişkili olduğunu desteklemektedir (79-82).

Çamaşır suyu üretimi ülkemizde büyük küçük bir çok firmada yapılmakta, üretim sırasında işçiler kimyasallarla doğrudan etkileşim içinde olmaktadır. Gerek üretim sırasında gerekse kullanım sırasında bu kimyasalların etkilerine bir çok insan maruz kalmaktadır. Mikronükleus (MN) testi, kromozom yada DNA seviyesindeki lezyonları ortaya çıkarmak için oldukça sık kullanılan bir metottur. Çamaşır suyunda bulunan sodyum hipoklorit DNA üzerinde bu şekilde lezyonlar oluşturabilir. Bu metot ile bölünen hücrelerde kromozom parçalarının yada tüm kromozomların oluşturduğu MN'ların sıklığı ölçülerek, bu hücrelerdeki kromozom yada DNA seviyesindeki lezyonlar hakkında bilgi edinilir (72). Bu çalışmamızda, sodyum hipoklorite maruz kalmış kişilerin ve uygun kontrollerin lenfositlerindeki MN değerleri karşılaştırılarak, sodyum hipokloritin genetik hasar oluşturup oluşturmadığı araştırılmıştır. Bu çalışmada ayrıca, NDI değerleri özel bir kimyasal yada fiziksel ajanın sitostatik etkileri ve lenfositlerin mitojenik cevabını karşılaştırmada bize önemli veriler sağladığından, MN testi için uygulanan sitokinez-bloklu hücrelerde NDI değerleri de hesaplanmıştır.

Çalışma sonuçlarımıza göre, sodyum hipoklorite maruz kalan işçilerle kontrol olarak seçilen kişilerin MN değerleri arasında farkın anlamlı olduğu ($p=0.002$) ve maruz kalan kişilerdeki MN frekansının kontrollerden yüksek olduğu bulunmuştur. Bu sonuçlar, sodyum hipoklorite maruz kalmış kişilerin lenfositlerinde kromozomal hasarın varlığına işaret etmektedir. Literatür araştırmamıza göre bizim çalışmamıza benzer şekilde

yapılmış çalışmalara rastlanamamıştır. Ancak, çeşitli dezenfektanlarla muamele edilmiş su örneklerinin sağlıklı kişilerden alınan kan örnekleri üzerinde in vitro olarak etkisinin araştırıldığı bir çalışmada, bizim bulgularımıza ters olarak, kültüre edilmiş insan beyaz kan hücrelerinde MN frekansının artmadığı bulunmuştur (68). Diğer taraftan, aynı çalışmada, kullanılan su örneklerinde NDI değerlerinin önemli şekilde azaldığı ve bu örneklerin sitotoksik olduğu gösterilmiştir (68). Bizim çalışmamızda da benzer şekilde, sodyum hipoklorite maruz kalan işçilerde sitotoksiteyi gösteren NDI değerlerinin kontrollere göre azaldığı bulunmuştur.

Literatürdeki bulunan diğer çalışmalar, su kaynaklarının dezenfeksiyonu ve dış antiseptiği için kullanılan sodyum hipokloritin genotoksik etkileri üzerinedir. Üç içme suyu dezenfektanına (sodyum hipoklorit, klorin dioksit, ve perasetik asit) in situ olarak maruz kalan *Cyprinus carpio* balıklarının eritrositlerindeki MN frekanslarının değerlendirildiği bir çalışmada, sodyum hipoklorit ve klorin dioksit kullanımının karsinojenik zararlı yan ürünler oluşturabileceği ve genetik hasarın indüklendiği önerilmiştir (66). Benzer şekilde, bu dezenfektanlara maruz kalmış *Cyprinus carpio* balıklarının eritrositlerinde comet assay ve MN frekansı ile mutajenite ve genotoksisitenin değerlendirildiği başka bir çalışmada da, DNA hasarı ve mutajenitenin indüklendiği gösterilmiştir (67). Ayrıca, sodyum hipoklorit dış antiseptiği olarak da kullanılmaktadır; ve yapılan çalışmalarda, Suriye hamster embriyo (SHE) hücrelerinde sitotoksik olduğu, kromozomal aberasyonlara sebep olduğu ve kardeş kromatid değişimi (sister chromatid exchange; KKD) frekanslarını artırdığı gösterilmiştir (69-71).

Diğer taraftan çamaşır suları, temizlik amacıyla evlerde sıklıkla kullanıldığından, içerdiği sodyum hipoklorite maruz kalma sonucunda oluşturduğu toksik yan etkilerinin yanısıra mutajenik/karsinojenik dezenfeksiyon yan ürünlerinin oluşumuna yol açması ve çalışma sonuçlarımıza göre genotoksik ve sitotoksik etkilere sahip olduğu gözönünde bulundurularak sodyum hipokloritin kullanımında dikkatli olunmalıdır.

6. KAYNAKLAR

1. http://tr.wikipedia.org/wiki/%C3%87ama%C5%9F%C4%B1r_suyu
2. Rutala WA, Weber DJ. Uses of inorganic hypochlorite (bleach) in health-care facilities. Clin Microbiol Rev 1997; 10(4): 597-610.
3. <http://www.das.org.tr/tr/dosya/kongre/kong2003/08.htm>
4. Winder C. The toxicology of chlorine. Environ Res 2001; 85 (2): 105-114.
5. Medina-Ramon M, Zock JP, Kogevinas M, et al. Asthma, chronic bronchitis, and exposure to irritant agents in occupational domestic cleaning: A nested case-control study. Occup Environ Med 2005; 62: 598-606.
6. http://66.102.9.104/search?q=cache:Pesd8NvkD64J:www.das.org.tr/tr/dosya/kongre/kong2005/20-05.pdf+NaOCl&hl=tr&ct=clnk&cd=42&gl=tr&lr=lang_tr
7. <http://www.das.org.tr/tr/dosya/kongre/kong2007/yazi/nedim.sultan-das-2007-yazi.pdf>
8. <http://www.google.com/search?q=cache:UPr6TpqgzjAJ:www.akkim.com.tr/download/bilgiformu/te>
9. <http://www.havuzsauna.com/detay.asp?v=358>
10. http://66.102.9.104/search?q=cache:Cyi91WtETtIJ:www.karaman.saglik.gov.tr/egitim/cevresu_hastalik.doc+%22sodyum+hipoklorit%22&hl=tr&ct=clnk&cd=93&gl=tr

11. Wolkoff P, Schneider T, Kildeso J, Degerth R, Jaroszewski M, Schunk H. Risk in cleaning: Chemical and physical exposure. *Sci Total Environ* 1998; 215: 135-156.
12. Dartar-Öztan M, Akman AA, Zaimoglu L, Bilgic S. Corrosion rates of stainless-steel files in different irrigating solutions. *Int Endod J* 2002; 35: 655-659.
13. <http://www.das.org.tr/tr/dosya/kongre/kong2003/10.htm>
14. Penna TC, Mazzola PG, Martins AM. The efficacy of chemical agents in cleaning and disinfection programs. *BMC Infect Dis* 2001; 1: 16.
15. Dychdala GR. Chlorine and chlorine compounds. In: Block SS (Ed). *Disinfection, Sterilization and Preservation*. SS Block. 4th ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 1991; pp. 131-151.
16. Bloomfield SF. Chlorine and iodine formulations. In: Ascenzi JM (Ed). *Handbook of Disinfections and Antiseptics*. New York: Marcel Dekker Inc, 1996; pp. 133-158.
17. http://66.102.9.104/search?q=cache:Pesd8NvkD64J:www.das.org.tr/tr/dosya/kongre/kong2005/20-05.pdf+NaOCl&hl=tr&ct=clnk&cd=42&gl=tr&lr=lang_tr
18. Bilgehan H. Sterilleme, dezenfekteleme, antisepsi ve uygulama yöntemleri. *Klinik Mikrobiyolojik Tanı*, 4. Baskı. Barış yayınları. 2004; Sayfa: 50-51.
19. <http://tuzerangora.sitemynet.com/tuzerangora/id5.htm>
20. http://66.102.9.104/search?q=cache:CBG67Xlo6K0J:www.tsn.org.tr/egcalhem/hepatitt_hiv_dezenfeksiyon.pdf+sodyum+hipoklorit&hl=tr&ct=clnk&cd=58&gl=tr
21. Evans HJ. Molecular mechanisms in the induction of chromosome aberrations, in: D. Sobels (Eds), *Progress in Genetic Toxicology*, Elsevier North Holland Biomedical Press, 1977; pp. 57-74.
22. Savage JRK. Update on target theory as applied to chromosomal aberrations. *Env Mol Mutagen* 1993; 22: 198-207.
23. Evans HJ. Cytogenet.: Overview. *Prog Clin Biol Res* 1990; 340B: 301-323.
24. Dellarco VL, Mavournin KH, Tice RR. Aneuploidy and health risk assessment: current status and future directions. *Environ Mutagen* 1985; 7: 405-424.
25. Guttenbach M, Schmid M. Exclusion of specific human chromosomes into micro-nuclei by 5-azacytidine treatment of lymphocyte cultures. *Exp Cell Res* 1994; 211: 127-132.

26. Natarajan AT, Obe G. Mutagenicity testing with cultured mammalian cells: cytogenetic assays, in: J.A.Heddle (Ed.), *Mutagenicity: New Horizons in Genetic Toxicology*, Academic Press, New York, 1982; pp. 171-213.
27. Schmid W. The micronucleus test. *Mutat Res* 1975; 31: 9-15.
28. Heddle JA. A rapid in vivo test for chromosome damage. *Mutat Res* 1973; 18: 187-192.
29. Fenech M, Morley AA. Solutions to the kinetic problem in the micronucleus assay. *Cytobios* 1985; 43: 233-246.
30. Fenech M, Morley AA. Measurement of micronucleus method in human lymphocytes. *Mutat Res* 1985; 147: 29-36.
31. Fenech M, Morley AA. Cytokinesis-block micronucleus method in human lymphocytes: effect of in vivo ageing and low-dose x-irradiation. *Mutat Res* 1986; 161: 193-198.
32. Carter SB. Effects of cytochalasins on mammalian cells. *Nature* 1967; 213: 261-264
33. Masunaga S, Ono K, Abe M. A method for the selective measurement of the radiosensitivity of quiescent cells in solid tumours-combination of immunofluorescence staining to BrdU and micronucleus assay. *Radiat Res* 1991; 125: 243-247.
34. Odagiri Y, Takemoto K, Fenech M. Micronucleus induction in cytokinesis-blocked mouse bone-marrow cells in vitro following in vivo exposure to X-irradiation and cyclophosphamide. *Env Mol Mutagen* 1994; 24: 61-67.
35. Degrassi F, Tanzarella C. Immunofluorescent staining of kinetochores in micronuclei: a new assay for the aneuploidy. *Mutat Res* 1988; 203: 339-345.
36. Thompson EJ, Perry PE. The identification of micronucleated chromosomes: a possible assay for aneuploidy. *Mutagenesis* 1988; 3: 415-418.
37. Farooqi Z, Darroudi F, Natarajan AT. Use of fluorescence in situ hybridisation for the detection of aneuploidy in cytokinesis-blocked Mouse splenocytes. *Mutagenesis* 1993; 8: 329-334.
38. Hando JC, Nath J, Tucker JD. *Sex chromosoma*. 1994; 103: 186-192.
39. Parry EM, Henderson L, Mackay JM. Guidelines for testing of chemicals. Procedures for the detection of chemically induced aneuploidy: recommendations of a UK Environmental Mutagen Society working group. *Mutagenesis* 1995; 10 (1): 1-14.

40. Elhajouji A, Hummellen P, Van, Kirsch-Volders M. Indications for a threshold of chemically induced aneuploidy in vitro in human lymphocytes. *Environ Mol Mutagen* 1995; 26: 292-304.
41. Fenech M, Neville S. Conversion of excision-repairable DNA lesions to micronuclei within one cell cycle in human lymphocytes. *Env Mol Mutagen* 1992; 19(1): 227-236.
42. Zijno A, Marcon F, Leopardi P, Crebelli R. Simultaneous detection of X-chromosome loss and non-disjunction in cytokinesis-blocked human lymphocytes by in situ hybridisation with a centromeric DNA probe; implications for the human lymphocyte in vitro micronucleus assay using cytochalasin-B. *Mutagenesis* 1994; 9(3): 225-232.
43. Elhajouji A, Tibaldi F, Kirsch-Volders M. Indication for thresholds of chromosome lagging induced by spindle inhibitors in vitro in human lymphocytes. *Mutagenesis* 1997; 12: 133-140.
44. Schuler M, Rupa DS, Eastmont DA. A critical evaluation of centromeric labelling to distinguish micronuclei induced by chromosomal loss and breakage in vitro. *Mutat Res* 1997; 392: 81-95.
45. Kirsch-Volders M, Elhajouji A, Cundari E, Hummelen P, Van. The in vitro micronucleus test: a multi-end-point assay to detect simultaneously mitotic delay, apoptosis, chromosome breakage, chromosome loss and non-disjunction. *Mutat Res* 1997; 392: 19-30.
46. Fenech M, Crott J, Turner J, Brown S. Necrosis, apoptosis, cytostasis and DNA damage in human lymphocytes measured simultaneously within the cytokinesis-block micronucleus assay: description of the method and result for hydrogen peroxide. *Mutagenesis* 1999; 14 (6): 605-612.
47. Kirsch-Volders M. (Ed). The CB in vitro Micronucleus Assay in Human Lymphocytes. Special Issue, *Mutat Res* 1997; 392: Special Issue (1,2).
48. Kirsch-Volders M, Sofuni T, Aardeme M, et al. Report from the in vitro micronucleus assay working group. *Environ Mol Mutagen* 2000; 35:167-172.
49. Surralles J, Carbonell E, Marcos R, Degrassi F, Antoccia A, Tanzarella C. A collaborative study on the improvement of the micronucleus test in cultured human lymphocytes. *Mutagenesis* 1992; 7 (6): 407-410.
50. Wakata A, Sasaki MS. Measurement of micronuclei by cytokinesis-block method in cultured Chinese hamster cells: comparison with types and rates of chromosome aberrations. *Mutat Res* 1987; 190: 51-57.

51. Prosser JS, Moquet JE, Lloyd DC, Edwards AA. Radiation induction of micronuclei in human lymphocytes. *Mutat Res* 1988; 199: 37-45.
52. Lindholm C, Norpa H, Hayashi M, Sorsa M. Induction of micronuclei and anaphase aberrations by cytochalasin-B in human lymphocyte cultures *Mutat Res* 1991; 260: 369-375.
53. Minissi S, Gustavino B, Degrassi F, Tanzarella C, Rizzoni M. Effect of cytochalasin-B on the induction of chromosome missegregation by colchicine at low concentrations in human lymphocytes. *Mutagenesis* 1999; 14: 43-49.
54. Fenech M, The advantages and disadvantages of the cytokinesis-block micronucleus method. *Mutat Res* 1997; 392: 11-18.
55. Kalweit S, Utesch D, Hude W. Von der, Madle S. Chemically induced micronucleus formation in V79 cells-comparison of three different test procedures. *Mutat Res* 1999; 439(2): 183-190.
56. Matsushima T, Hayashi M, Matsuoka A, Ishidate M. Jr, Miura KF, Shimizu H, Suzuki Y, Morimoto K, Ogura H, Mure K, Koshi K, Sofuni T. Validation study of the in vitro micronucleus test in a Chinese hamster lung cell line (CHL/IU). *Mutagenesis* 1999; 14(6): 569-580.
57. Fenech M. Mathematical model of the in vitro micronucleus assay predicts false negative results if micronuclei are not scored specifically in binucleated cells or cells that have completed one nuclear division. *Mutagenesis* 2000; 15 (4): 329-336.
58. Vig BK, Swearngin SE. Sequence of centromere separation: kinetochore formation in induced laggards and micronuclei. *Mutagenesis* 1986; 1: 464-465.
59. Earnshaw WC, Migeon BR. Three related centromere proteins are absent from the inactive centromere of a stable dicentric chromosome. *Chromosoma* 1985; 92: 290-296.
60. Farooqi Z, Darroudi F, Natarajan AT. Use of fluorescence in situ hybridisation for the detection of aneuploids in cytokinesis-blocked mouse splenocytes. *Mutagenesis* 1993; 8: 329-334.
61. World Health Organization (WHO), Revision of the WHO Guidelines for Drinking Water Quality, Geneva, Switzerland, 1996.
62. Boorman GA, Dellarco V, Dunnik JK, Chapin RE, Huntr S, Hauchman F, Gardner H, Cox M, Sills RC. Drinking water disinfection by-products: review and approach to toxicity evaluation. *Environ Health Perspect* 1999; 107 (1): 207-217.

63. Soffritti M, Belpoggi F, Lenzi A, Maltoni C. Results of long term carcinogenicity studies of chlorine in rats. *Ann. NY Acad. Sci.* 1997; 26: 189–208.
64. Koivusalo M, Pukkala E, Vartiainen T, Jaakkola JJ, Hakulinen T. Drinking water chlorination and cancer—a historical cohort study in Finland. *Cancer Causes Control* 1997; 8: 192–200.
65. Steffensen IL, Paulsen JE, Engeset D, Kronberg L, Alexander J. The drinking water chlorination by-products 3,4-dichloro-5-hydroxy-2[5H]-furanone (mucochloric acid) and 3-chloro-4-(dichloromethyl)-5-hydroxy-2[5H]-furanone do not induce preneoplastic or neoplastic intestinal lesions in F344 rats, Balb/ca mice or C57bl/6J-min mice. *Pharmacol. Toxicol.* 1999; 85: 56–64.
66. Sapone A, Gustavino B, Monfrinotti M, et al. Perturbation of cytochrome P450, generation of oxidative stress and induction of DNA damage in *Cyprinus carpio* exposed *in situ* to potable surface water. *Mutat Res* 2007; 626: 143-154.
67. Buschini A, Martino A, Gustavino B, Monfrinotti M, Poli P, Rossi C, Santoro M, Dörr AJM, Rizzoni M. Comet assay and micronucleus test in circulating erythrocytes of *Cyprinus carpio* specimens exposed *in situ* to lakewaters treated with disinfectants for potabilization. *Mutat Res* 2004; 557: 119–129.
68. Maffei F, Buschini A, Rossi C, Poli P, Forti GC, Hrelia P. Use of the Comet test and Micronucleus assay on human white blood cells for *in vitro* assessment of genotoxicity induced by different drinking water disinfection protocols. *Environ Mol Mutagen* 2005; 46(2): 116-125.
69. Hamaguchi F, Tsutsui T. Assessment of genotoxicity of dental antiseptics: ability of phenol, guaiacol, *p*-phenolsulfonic acid, sodium hypochlorite, *p*-chlorophenol, *m*-cresol or formaldehyde to induce unsheduled DNA synthesis in cultured syrian hamster embryo cells. *Jpn J Pharmacol* 2000; 83: 273-276.
70. Miyachi T, Tsutsui T. Ability of 13 chemical agents used in dental practice to induce sister chromatid exchanges in Syrian hamster embryo cells. *Odontology* 2005; 93: 24-29.
71. Hagiwara M, Watanabe E, Barrett JC, Tsutsui T. Assessment of genotoxicity of 14 chemical agents used in dental practice: Ability to induce chromosome aberrations in Syrian hamster embryo cells. *Mutat Res* 2006; 603(2):111-20.
72. Fenech M. The *in vitro* micronucleus technique. *Mutat Res* 2000; 455: 81-95.
73. Umegaki K, Ikegami S, Inoue K, et al. Beta – carotene prevents X – ray induction of micronuclei in human lymphocytes. *Am Clinl Nutr* 1994; 59: 409-412.

74. Balasem AN, and Ali AS. Establishment of dose-response relationships between doses of CS-317 7-rays and frequencies of micronuclei in human peripheral blood. *MutatRes* 1991; 259: 133-138.
75. World Health Organisation (WHO), 1996. *Guideline for Drinking Water Quality*, second ed. Health Criteria and Other Supporting Information, Geneva.
76. Kargalioglu Y, McMillan BJ, Minear RA, Plewa MJ. An analysis of cytotoxicity and mutagenicity of drinking water disinfection by-products in *Salmonella typhimurium*. *Teratogen Carcin Mutagen* 2002; 22: 113–128.
77. Lu WQ, Chen XN, Yue F, Jenter C, Gminski R, Li XY, Xie H, Mersch-Sundermann V. Studies on the in vivo and in vitro mutagenicity and the lipid peroxidation of chlorinated surface (drinking) water in rats and metabolically competent human cells. *Mutat Res* 2002; 513: 151–157.
78. Plewa MJ, Kargalioglu Y, Vankerk D, Minear RA, Wagner ED. Mammalian cell cytotoxicity analysis of drinking water disinfection by-products. *Environ Mol Mutagen* 2002; 40: 134–142.
79. Koivusalo MT, Jaakkolam JJK, Vartiainen T, Hakulinen T, Karjalainen S, Pukkala E, Tuomisto J. Drinking water mutagenicity and gastrointestinal and urinary tract cancers: an ecological study in Finland. *Am J Public Health* 1994; 84 (8): 1223–1228.
80. Bull RJ, Birnbaum LS, Cantor K, Rose J, Butterworth BE, Pegram R, Tuomisto J. Water chlorination: essential process or cancer hazard? *Fund Appl Toxicol* 1995; 28: 155–166.
81. Nissinen TK, Miettinen IT, Martikainen PJ, Vartiainen, T. Disinfection by-products in finnish drinking waters. *Chemosphere* 2002; 48 (1): 9–20.
82. King WD, Dodds L, Allen AC. Relation between stillbirth and specific chlorination by-products in public water supplies. *Environ Health Perspect*. 2000; 108 (9): 883–886.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Selçuk UZUN

Baba Adı : Suphi

Anne Adı : Sabahat

1976 yılında Mersin ilinde doğdu. İlk öğrenimini Tömük Yeşilyurt İlkokulunda, orta öğrenimini Erdemli Lisesi ve Mersin Tevfik Sırrı Gür Liselerinde tamamladı. Gazi Üniversitesi Çorum Meslek Yüksek Okulu Harita Kadastro Bölümünü bitirdikten sonra Lisans öğrenimini Erciyes Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümünde 2001 yılında tamamladı. Lisans öğreniminin ardından Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsünde Yüksek Lisans öğrenimine başladı. 2002 yılında Diyarbakır ili Ergani ilçesi Yukarı Bitikçi İlköğretim Okuluna sınıf öğretmeni olarak atandı. Daha sonra Kayseri ili Özvatan ilçesi Hayriye İlköğretim Okulunda öğretmenlik görevine devam etti. Şu an Mersin ili Erdemli 700.Yıl Anadolu Lisesi'nde Biyoloji öğretmeni olarak meslek hayatına devam etmektedir.

İletişim Bilgileri :

Tömük Kasabası

Yeşilyurt Mahallesi Kömürcü Sokağı

No: 115 Erdemli / MERSİN

Tel: 0505 8432341

e-posta : fbsu@mynet.com