



Alınış tarihi (Received): 05.09.2018

Kabul tarihi (Accepted): 28.12.2018

Baş editor/Editors-in-Chief: Çetin ÇEKİÇ

Alan editörü/Area Editor: Köksal PABUÇCU / Bülent TURAN

Ames / Salmonella / Mikrozom Testi ile Parabenin (p-hidroksibenzoik asit metil ester) Mutajenik Aktivitesinin Araştırılması

Melek Aydoğan^a Kültiğin Çavuşoğlu^a Emine Yalçın^{a,*}

^aGiresun Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Giresun-Türkiye

*Sorumlu yazar, e-posta: emine.yalcin@giresun.edu.tr

ÖZET: Ksenobiyotik kullanımının hızla artması ve gerekli güvenlik testlerinden geçmeden kullanılmaya başlanmasıyla birlikte kimyasalların insan sağlığı ve doğal kaynaklar üzerine olumsuz etkileri ortaya çıkmıştır. Ames testi, ksenobiyotikler tarafından meydana gelen mutasyonların hücre düzeyinde belirlenmesi amacıyla kullanılan kısa zamanlı test sistemlerinden biridir. Bu çalışmada Ames/Salmonella/mikrozom Testi uygulanarak p-hidroksibenzoik asit metil esterinin mutajenik etkisi araştırılmıştır. Yöntemde Mutachromeplate test kiti ile *Salmonella typhimurium* TA 100 ve TA 98 suşları kullanılmıştır. Deneyler S9'lu ve S9'suz olmak üzere iki grup halinde gerçekleştirilmiştir. S9'lu ve S9'suz ortamda tüm çalışma konsantrasyonlarında pozitif koloni sayıları, spontan pozitif koloni sayılarından daha fazla bulunmuştur. Paraben dozu arttıkça pozitif kuyucuk (koloni) sayısında arttığı belirlenmiştir. Her iki suş için en yüksek revertant koloni 100 µg/plak dozunda elde edilmiştir. Sonuç olarak p-hidroksibenzoik asit metil esterinin yüksek dozlarının TA 100 ve TA 98 suşları için mutajenik olduğu belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler – Ames testi, mutajenite, paraben, *Salmonella typhimurium*

Investigation of the Paraben (p-hydroxybenzoicacid-methyl ester) Mutagenicity by Using Ames / Salmonella / Microsomal Test

ABSTRACT: The increased usage of xenobiotics without sufficient testing, has affected human health and natural resources negatively. Ames is a test system which can detect mutations caused by xenobiotics at cellular level. In this study, the mutagenic effect of p-hydroxybenzoicacid-methyl ester was investigated by the Ames Salmonella/microsome test. Mutachromoplate Test Kit, *Salmonella typhimurium* TA 98 and TA 100 strains were used in experiments. The mutagenic activity was screened in two groups with or without S9 metabolic activation. According to the results positive colony count was found higher than those spontaneous positive colony count among all of the concentrations and as well as under the conditions of with and without S9 (p>0.05). Positive colony count were increased with increasing the p-hydroxybenzoicacid-methyl ester concentration. For TA 98 and TA 100 the maximum positive colony count was observed at a level of 100 µg/plate. In conclusion, it was shown that p-hydroxybenzoicacid-methyl ester was mutagenic for TA 98 and TA 100 in higher dose.

Keywords – Ames test, mutagenicity, paraben, *Salmonella typhimurium*

1. Giriş

Artan endüstrileşme ile birlikte ortaya çıkan ve giderek artış gösteren çevre kirliliği uluslararası sorun olmaktan çok küresel sorun olarak kabul edilmektedir. Artan endüstrileşmenin çevre ve insan sağlığı üzerinde oluşturduğu risklerin azaltılması konularında çeşitli çalışmalar yapılmaktadır. Bununla birlikte gün geçtikçe endüstriyel amaçlı kullanılan kimyasalların sayıları ve çeşitliliği hızla artmakta ve kullanımı da yaygınlaşmaktadır. Bu artışın çevre ve insan sağlığı açısından güvenilir olması için kullanılan kimyasalların toksik etkilerinin incelenmesi ve gerekli önlemlerin alınması gerekmektedir. Bu sayede hem risk taşıyan kimyasalların etkilerinden korunmuş hem de bu kimyasalların oluşturdukları problemlerin çözümü için gerekli olan zaman ve maliyet ortadan kalkmış olacaktır (Özen, 2002).

Mutasyonlar genetik materyaldeki hasar sonucu somatik hücrelerde ya da germ hücrelerinde ortaya çıkmaktadır. Karsinojen etkiye sahip bileşikler genellikle DNA, RNA ve proteinlerdeki fonksiyonel gruplara saldırabilen elektrofillik yapıdaki maddelerdir (Murray ve ark. 1993). Mutajenlerin belirlenmesi için çeşitli yöntemlerin geliştirilmesi, kalıtsal hastalık ve kanser riskinin azaltılabilmesi için yapılan çalışmalar genetik toksikolojinin önemli alanlarından biridir (Temizkan, 1996). Bu çalışmada p-hidroksibenzoik asit metil esterinin (pHBME) mutajenik aktivitesi Ames/Salmonella/Mikrozom testi ile araştırılmıştır. pHBME'ler kozmetik ürünlerde, ilaçlarda ve gıdalarda koruyucu amaçla kullanılan antimikrobiyal maddelerdir. Ucuz olmaları ve kullanılabilirliğinin yüksek olması sebebiyle pek çok sektörde yaygın olarak kullanılmaktadır (Darbre ve Harvey, 2008). pHBME'ler dermal absorpsiyon sonrasında karaciğer ve bağırsakta esterazlar tarafından metabolize edilmekte, östrojen reseptörlerine bağlanarak östrojenik etki göstermektedirler (Castelain ve Castelain, 2012). Metil ve propilparabenlerin mitokondri fonksiyonlarının kuvvetli inhibitörleri olmaları nedeniyle erkek infertilitesinde etkili olduğu da belirlenmiştir (Crinnion, 2010). Ayrıca etil ve metilparabenlerin hamster over hücrelerinde kromozomal anomalileri arttırdığı da belirtilmektedir (Andersen, 2008). Paraben toksisitesi hakkındaki çalışmalar daha çok endokrin sistemdeki toksik etkileri üzerinedir ve mutajenitesi üzerine etkilerinin daha çok aydınlatılması gereklidir.

Ames/Salmonella/mikrozom mutajenite testi, kimyasal maddelerin mutajenik etkilerinin araştırılmasında sıkça kullanılan, geçerliliği yüksek oranda kabul gören bakteriyel test yöntemlerinden biridir. Ayrıca yüksek uygulanabilirlik, hızlı sonuç vermesi ve düşük maliyetli olması nedenleriyle yaygın kullanım alanına sahiptir. Bu testin temeli, histidin sentezleme özelliğini kaybetmiş mutant *Salmonella typhimurium*'un ikinci bir mutasyonla histidini sentezleyebilen revertant suşların oluşumu esasına dayanmaktadır. Histidinsiz ortamda üreyebilmelerine yol açan revertant koloniler tespit edilerek mutajenite belirlenmektedir (McCann ve ark. 1975; Mortelmans ve Zeiger, 2000). Memelilerde detoksifikasyon enzimleri tarafından gerçekleştirilen biyotransformasyon olayı pek çok ksenobiyotığın mutajenitesini de değiştirmektedir. Biyotransformasyon sonrasında mutajen bir bileşik inaktif hale, mutajen olmayan bir bileşik ise mutajen hale dönüşebilir. Memelilerde detoksifikasyon mekanizmasını gerçekleştiren enzim sistemlerinin bakterilerde olmaması, Ames test sistemi için sorun yaratan bir unsur olarak düşünülebilir. Fakat memeli hayvanlardan izole edilen detoksifikasyon enzimlerinin bakteriyel sisteme ilave edilmesiyle bu sorun ortadan kalkmış olmaktadır (Erdinger ve ark. 2001). Yaygın olarak kullanılan enzim sistemi, sıçanların enzim aktivasyonu olan karaciğer dokularından elde edilen mikrozomal enzim fraksiyonlarıdır. Sitokrom P-450 bağımlı monooksijenazlar,

sitokrom P-450 bağımsız oksidazlar, esterazlar ve transferazlar, azo ve nitroredüktazlar gibi enzim özütü ve çeşitli kofaktörler içeren tampon sistemi “S9 karışımı” adını almaktadır. Bu amaçla günümüzde Ames testi S9(+) ve S9(-) olmak üzere iki şekilde yürütülmektedir. S9(+) Ames testi ile bir molekülün vücuda alınıp biyotransformasyona uğradıktan sonraki mutajenitesi de test edilmiş olmaktadır. Bu çalışmada pHBME'nin mutajenitesi Muta-ChromoPlate™ kiti kullanılarak S9(+) ve S9(-) Ames testi ile araştırılmıştır.

2. Materyal ve Yöntem

2.1. *Salmonella typhimurium* Test Suşları

Bu çalışmada, *Salmonella typhimurium*'un TA98 ve TA100 suşları kullanılmıştır. *Salmonella typhimurium*'un TA98 suşu çerçeve kayma mutasyonu, TA100 suşu ise nokta mutasyonu özelliği taşımaktadır. pHBME uygulama dozları olarak 5 µg/plak, 10 µg/plak, 25 µg/plak, 50 µg/plak ve 100 µg/plak konsantrasyonları hazırlanıp bakteriler üzerinde denenmiştir. Deneyde her doz, her suş için 3 plak halinde test edilmiştir. Ayrıca pozitif kontrol ve solvent kontrol deneye paralel olarak uygulanmıştır. Çalışmamızda, 2-aminofluoren (0.1 ml/plak) pozitif mutajen olarak test edilmiştir (Omurtag ve ark. 2013).

2.2. Parabenin Sitotoksik Etkilerinin Saptanması

Kullanılan test maddelerinin test bakterileri için öldürücü dozunun saptanması amacıyla top agara 0.1 ml bakteri kültürü ve 0.1 ml test maddesinin farklı konsantrasyonları eklenmiştir. Tüpteki karışım Nutrient Agar plaklarına dökülmüş ve 37°C'de 24 saat inkübe edilmiştir.

2.3. S9 (-) Ames Testi Uygulaması

Muta-ChromoPlate™ kiti kullanılarak gerçekleştirilen Ames testi, geleneksel yöntemlerle yapılan testlere kıyasla daha kullanışlıdır. Çünkü yüksek konsantrasyonlarda örneklerin uygulanmasına izin vermekte ve hızlı sonuç elde edilmesini sağlamaktadır. Kit içeriğindeki besiyeri, bakteri içeren ortama steril enjektörler yardımı ile aktarılmış ve 37°C'de 16 -18 saat süre ile inkübe edilerek suşlar canlandırılmıştır. Steril tüplere 2.5 ml hazırlanan reaksiyon karışımları ile 2.5 ml farklı konsantrasyonlarda pHBME çözeltileri ilave edilmiş ve vortekslenmiştir. Pozitif kontrol olarak işaretlenen tüplere 100 µl 2-aminofluoren, negatif (solvent) kontrol tüplerine 100 µl dH₂O, test tüplerine ise 100 µl farklı konsantrasyonlarda pHBME eklenmiştir. Tüm tüplere 5 µl bakteri kültürü eklenmiş ve karışım vortekslenmiştir. Tüplerden alınan 200 µl'lik örnekler 96 kuyucuklu plaklara ekilmiş, 5 gün süre ile 37°C'de plaklar inkübe edilmiştir.

2.4. S9 (+) Ames Testi Uygulaması

pHBME mutajenitesi üzerine biyotransformasyonun etkisini belirlemek için farklı dozlardaki pHBME çözeltisi S9 karışımı ile 2 saat süre ile etkileştirilmiş ve aynı prosedür tekrar edilmiştir. S9 karışımı bileşenleri Çizelge 1' de verilmiştir.

Çizelge 1. S9 bileşenleri**Table 1.** S9 contents

S9 Karışımı	İçerik
S9A	MgCl ₂ + KCL
S9B	Glukoz-6-Fosfat
S9C	NADP
S9D	Fosfat Tamponu
S9E	Steril Distile Su
S9F	Sıçan Karaciğer Ekstraktı

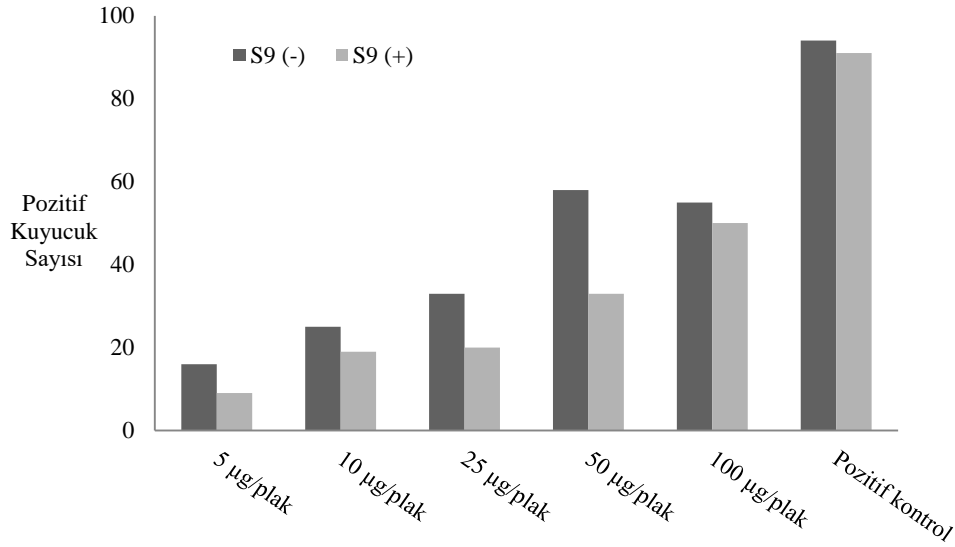
2.5. Sonuçların değerlendirilmesi

Mutasyon oluşumu kolonideki bakterilerin yeniden histidin sentezlediğine, büyümeye devam ettiğine ve kuyucukdaki mor renkli çözeltilerin sarıya dönmesine neden olmaktadır. Renk dönüşümü gözlenen kuyucuklar pozitif kuyucuk olarak, her bir pozitif kuyucuk ise bir koloni olarak değerlendirilmiştir.

3. Bulgular ve Tartışma

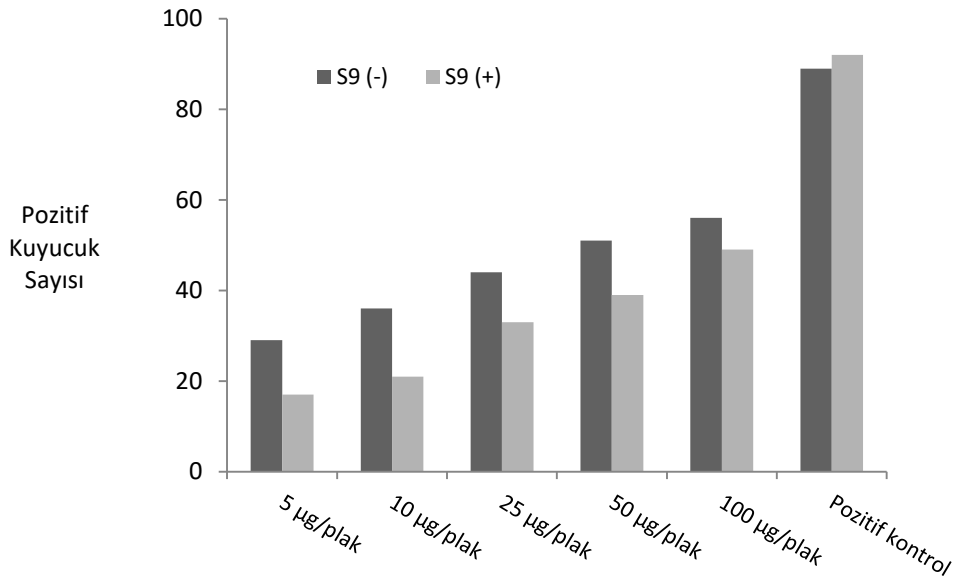
Bu çalışmada endüstriyel sektörlerde kullanılan pHBME'nin mutajenik özelliği Ames testi ile araştırılmıştır. pHBME'nin mutajenitesi 5 µg/plak, 10 µg/plak, 25 µg/plak, 50 µg/plak ve 100 µg/plak konsantrasyonlarında Ames S9 (+) ve S9 (-) olmak üzere iki uygulama ile değerlendirilmiştir. Muta-ChromoPlate testinde kuyucukdaki mor renkli çözeltilerin sarıya dönmesi (pozitif kuyucuk) mutajeniteye işaret etmektedir. Her bir kuyu bir koloni olarak değerlendirilmiş ve renk dönüşümü gözlenen sarı renkli kuyucuklar revertant koloni olarak değerlendirilmiştir. pHBME'nin farklı dozlarına ait pozitif kuyucuk sayıları Şekil 1 ve Şekil 2'de verilmiştir.

TA 98 suşu ile test edilen analizlerde pHBME konsantrasyonunun artışı ile birlikte pozitif kuyucuk sayısının arttığı belirlenmiştir. S9 (-) testinde 100 µg/plak pHBME dozunda gözlenen pozitif koloni sayısının 5 µg/plak dozuna kıyasla 3.4 kat fazla olduğu, aynı suşun S9 (+) testinde ise 100 µg/plak pHBME'nin dozunda gözlenen pozitif koloni sayısının 5 µg/plak uygulamasına kıyasla 5.5 kat fazla olduğu belirlenmiş ve bu farklılıkların istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edilmiştir (p<0.05).



Şekil 1. PHBME uygulamasında TA98 suşuna karşı elde edilen pozitif kuyucuk sayıları
Figure 1. Positive well number of PHBME treatment against TA98 strain

TA 100 suşu ile gerçekleştirilen S9 (-) analizlerde 100 µg/plak pHBME dozunda gözlenen pozitif koloni sayısının 5 µg/plak dozuna kıyasla 1.93 kat fazla olduğu, aynı suşun S9 (+) testinde ise 100µg/plak pHBME dozunda gözlenen pozitif koloni sayısının 5 µg/plak uygulamasına kıyasla 2.8 kat fazla olduğu belirlenmiştir. S9 (-) ve S9 (+) uygulamaları için 100 µg/plak ve 5 µg/plak uygulama arasındaki farklılıkların istatistiksel olarak anlamlı olduğu belirlenmiştir ($p < 0.05$).



Şekil 2. PHBME uygulamasında TA100 suşuna karşı elde edilen pozitif kuyucuk sayıları
Figure 2. Positive well number of PHBME treatment against TA100 strain

TA 98 ve TA 100 suşları ile yapılan deney sonuçları değerlendirildiğinde, S9'lu ve S9'suz ortamda elde edilen koloni sayıları, pozitif kontrol olarak kullanılan 2- aminofluorende elde edilen koloni sayılarına kıyasla oldukça düşüktür. Fakat mutajenik özellik sergileyecek seviyededir. Her iki suş için en yüksek revertant koloni 100 µg/plak pHBME'nin dozunda elde edilmiştir. Bununla birlikte pHBME'nin TA 100 suşuna karşı daha yüksek mutajenik özellik sergilediği de belirlenmiştir. Ayrıca S9 (-) testinde elde edilen pozitif kuyucuk (koloni) sayısının S9 (+) 'a kıyasla daha yüksek olduğu da belirlenmiştir. Bu durum pHBME'nin toksik özelliğinin S9 ortamında bulunan enzimler tarafından azaltıldığına işaret etmektedir.

Literatürde Ames testi ile çok farklı ksenobiyotikler test edilmiş ve farklı boyutlarda sonuçlar elde edilmiştir. Ames testi ile çevre kirleticilerin ve ilaçların (Dökmeci, 1988; Daniels ve ark. 1993; Vargus ve ark. 1993), safra asiterinin, quinolin ve monohidroksiquinolin'lerin (Mori ve ark. 1991), sodyum benzoat ve sodyum nitratın (Akın ve Sümer, 1989), hava kirliliğini etmenlerinin, fabrika faaliyetleri sonucu oluşan kirli havanın (Ong ve ark. 1984; Bağcı ve ark. 1992) ve içeceklerdeki malik asit ve tartarik asit komplekslerinin ve içme sularının (Chang ve ark. 1998) mutajenitesi araştırılmıştır. Öksüzöğlü (2000), bitki büyüme hormonlarının mutajenik etkilerini Ames testi ile araştırmıştır, bitki büyüme hormonlarından Benziladenin TA 98 suşunda ve S9 fraksiyonu varlığında zayıf mutajenik etki gösterdiğini rapor etmiştir. Charles ve ark. (2000) Dimetilalanin tuzunun *Salmonella typhimurium* TA98, TA 100, TA 1535, TA 1537 ve TA 1538 suşlarında, S9 varlığında ve yokluğunda genotoksik açıdan bir potansiyel taşımadığını saptamışlardır.

Literatürde paraben ve esterlerinin toksisitesi üzerine çalışmalar daha çok endokrin sistem üzerine etkilerine odaklanmıştır. Metil ve propilparabenlerin mitokondri fonksiyonlarının kuvvetli inhibitörleri olmaları nedeniyle erkek infertilitesinde etkili olduğu bildirilmektedir (Crinnion, 2010). Parabenler, östrojen yapısına benzerliğinden dolayı östrojen reseptörlerine bağlanarak endokrin sistem üzerinde olumsuz etkilere neden olmaktadır. Bununla birlikte in vitro ortamda insan meme kanser hücrelerinin büyümesini tetikledikleri de rapor edilmektedir. Propil ve butilparabenlere erken çocukluk döneminde maruz kalınması ile erkeklerde fertilité üzerine olumsuz etkiler olabileceğine dair bilgiler de mevcuttur (Andersen, 2008; Castelain ve Castelain, 2012). Parabenler zayıf östrojenik aktivite göstererek MCF-7 insan meme kanseri hücrelerinin çoğalmasını indüklediği belirlenmiştir. Bu durum parabenin insan deri hücrelerinde sitozolde bulunan sülfotransferaz aktivitesini inhibe etmesi sonucu östrojen düzeyinde görülen değişimler ile açıklanmıştır (Darbre ve Harvey, 2008.). Sülfotransferaz enzimleri östradiolün östrona dönüşümünü sağlayarak östrojen metabolizmasını düzenlemektedir. Bu enzimlerin inhibisyonu sonucu östrojen metabolizmasında aksamalara neden olmaktadır (Ertüngealp ve Seyisoğlu, 1996; Cummings ve ark. 1999). Çeşitli genotoksik çalışmalarda da parabenlerin genel olarak mutajenik olmadıkları belirtilmekle birlikte etil ve metil parabenlerin hamsterover hücrelerinde kromozomal anomalileri arttırdığı da saptanmıştır (Andersen, 2008).

Bu çalışmada da pHBME'nin mutajenik aktivitesi S9 (+) ve S9 (-) Ames testi ile Muta-ChromoPlate kiti kullanılarak araştırılmış ve belirli bir düzeyde mutajenik özelliğe sahip olduğu belirlenmiştir. pHBME'nin yüksek dozlarında özellikle 100 µg/plak dozunda TA 100 ve TA 98 suşları için S9 varlığında ya da yokluğunda mutajenik olduğu belirlenmiştir. Ayrıca S9 (-) yokluğunda her iki suş için gözlenen pHBME mutajenitesinin S9 (+) 'a kıyasla daha yüksek olduğu saptanmıştır. Bu sonuç pHBME'nin biyotransformasyon öncesinde mutajenik özelliğe sahip olduğunu, detoksifikasyon enzimleri ile parçalanması sonrasında mutajenik

özelliğinde azalma olduğuna işaret etmektedir. Bununla birlikte S9(-)'e kıyasla S9(+) uygulamalarında da mutajen özellik saptanması biyotransformasyon sonrasında oluşan ara metabolitlerinde mutajenik özellikte olabileceğine işaret etmektedir.

4. Sonuç

Ksenobiyotik sayılarının ve çeşidinin gün geçtikçe artması ve gerekli güvenlik testleri uygulanmadan kullanılması, insan ve çevre sağlığı üzerinde olumsuz etkilere neden olmaktadır. Endüstriyel alanların gelişmesiyle, kimyasala maruziyetin artması, kullanılan tüm kimyasallar için toksisite testlerini zorunlu hale gelmiştir. Çevremizde bulunan ve biyolojik etkileri henüz araştırılmamış olan sentetik ve doğal maddelerin mutajenik aktivitelerinin test edilmesi sağlığımız açısından önem arz etmektedir. İn vivo mutajenite testlerinin çok zaman almaları ve pahalı olmaları nedeniyle yüksek verim elde edilememektedir. Bu nedenle, kimyasal maddelerin toksisitelerini ölçebilmek için, pek çok in vitro test yöntemleri geliştirilmiştir. Kısa zamanlı testler ile ksenobiyotiklerin olumsuz etkileri incelenmekte ve elde edilen sonuçlarla test edilen maddelerin mutajenik etkileri değerlendirilmektedir. Bu çalışma ile günlük hayatta sıkça maruz kaldığımız pHBME'in mutajenik özelliği AMES testi ile araştırılmıştır.

Sonuç olarak, mutajenite tayininde ön değerlendirme olarak pHBME'in biyotransformasyona bağlı olarak farklı düzeyde mutajenik özellik sergilediği belirlenmiştir. Bu özelliğin doza bağımlı olarak arttığı da düşünüldüğünde kullanımının kısıtlanması, zaruri kullanımlarda ise düşük dozların tercih edilmesi alınabilecek önlemlerin başında gelmektedir.

Teşekkür

Bu çalışma Giresun Üniversitesi BAP Koordinatörlüğü tarafından FEN-BAP-C-250414-05 kodlu proje ile desteklenmiştir.

Kaynaklar

- Akın, A., Sümer, S. 1989. Gıda Katkı Maddesi Olarak kullanılan Sodyum Benzoat ve Sodyum Nitratın Salmonella/Microsome test Sisteminde Etkilerinin Araştırılması. Hacettepe Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi. 10, 21-27.
- Bağcı, H. 1985. Ortadoğu Teknik Üniversitesi, Yaz Okulu Moleküler Biyoloji Ders Notları.
- Castelain, F., Castelain, M. 2012. Parabens: a real hazard or a scare story. European Journal of Dermatology. 22, 723-7.
- Chang, T.L., Robert, P., Hanzimmer, S. 1988. The interaction of aqueous solutions of chlorinwithmaicacid, tartaricacidandvariousfruitjuics, a source of mutagens. Analytical Letters. 21 (11), 2049-2067.
- Charles, J. M., Cifone, M. A., Lawlor, T. E., Murli, H., Young, R. R., Leeming, N. M. 2000. Evaluation of the in vitro genetic toxicity of 4-(2,4- Dichlorophenoxy) butyricacid. Mutation Research. 472, 75-83.
- Crinnion, W.J. 2010. Toxic effects of the easily avoidable phthalates and parabens. Journal of Clinical Therapeutic. 15, 190-6.
- Daniels, A.E, Reyes, A.L., Wymer, L.J., Rankin, C.C., Stelma, G.N. 1993. Genotoxic Activity detected in Soils From a Hazardous Waste site by the Ames test and an SOS colorimetric test. Environmental and Molecular Mutagen. 22, 115-122.
- Darbre, P.D., Harvey, P.W. 2008. Paraben esters: rewiev of recent studies on endocrine toxicity, absorption, esterase and human exposure and discussion of potential human health risks. J Applied Toxicology. 28, 561-578.
- Dökmeci, İ. 1988. Toksikoloji, Akut zehirlenmelerde Tanı ve Tedavi, Nobel Kitap kitabevi, İstanbul. 547.
- Erdinger, L., Haack, T., Boche, G. 2001. Mutagenicity in *Salmonella typhimurium* TA 98 and TA 100 of nitrose and respective hydroxylamine compounds. Mutation Research. 491, 183-193.

- Ertüngealp, E., Seyisoğlu, H. 1996. Klimakterium ve menopoz. Kişnişçi H, Gökşin E, Durukan T, Üstay K, Ayhan A, Gürkan T, Önderoğlu L. Temel kadın hastalıkları ve doğum bilgisi. 1. Baskı. Ankara: Güneş Kitabevi. 1319-52.
- Final amended report on the safety assessment of Methylparaben, Ethylparaben, Propylparaben, Isopropylparaben, Butylparaben, Isobutylparaben, and Benzylparaben as used in cosmetic products. International J Toxicology. 27, 1-82— “Andersen A. 2008. Final amended report on the safety assessment of Methylparaben, Ethylparaben, Propylparaben, Isopropylparaben, Butylparaben, Isobutylparaben, and Benzylparaben as used in cosmetic products. International J Toxicology. 27, 1-82.
- McCann, J., Choi, E., Yamasaki, E., Ames, B.N. 1975. Detection of carcinogens as mutagens in the Salmonella/microsome test: Assay of 300 chemicals. Proceedings of the National Academy of Sciences. 72, 5135-39.
- Mori, Y. 1991. Absence of Mutagenic Action of 5-B cholan 24 oic acid Derivatives in the Bacterial Fluctation and Standart Ames Tests. Mutation Research. 262, 267-274.
- Mortelmans, K., Zeiger, E. 2000. The Ames Salmonella/microsome mutagenicity assay. Mutation Research. 455, 29-60.
- Murray, R.K., Mayes, P.A., Granner, D.D.K., Rodwell, V.W. 1993. ed: Gülriz Menteş Harper'in Biyokimyası, Barış Kitabevi İstanbul, 811-917.
- Omurtag, G. Z., Arıcıoğlu, F. Şardaş, S., Oğuz, S. 2013. Mutajenik Karsinojenik Etkinin Ames Testi İle Araştırılması. Marmara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi. 3(2), 75-82.
- Ong, T., Steward, J., Whong, W.Z. 1984. A simple Insitue Mutagenicity Test System for Detection of Mutagenic Air Pollution. Mutation Research. 139, 177-181.
- Öksüzöğlü, E., Diril, N., Durusoy, M. 2000. Mutagenic effects of plant growth hormones with the Salmonella/microsome test and the SOS chromotest. Bulletin Environment Contamination and Toxicology. 65, 691-698.
- Özen, E. 2012. 1,4 Dioksan Verilen Albino Farelerde Yeşil Çayın Bazı Biyokimyasal Parametreler Üzerine Koruyucu Etkisi. Yüksek Lisans Tezi Giresun Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, 60.
- Temizkan, G.O. 1996. Moleküler Genetik, İstanbul Üniversitesi Yayınları, İstanbul. 281.
- Vargus, V.M.F., Motho, V.E.P., Henriques, J.A.P. 1993. Mutagenic Activity Detected by the Ames Test in River Water Under the Influence of Petro Chemical Industries. Mutation Research. 319, 31-45.