

**RATLARDA LİNEAR ALKİL BENZEN SÜLFONATIN SERUM VE KARACİĞERDEKİ ENZİM
AKTİVİTELERİ ÜZERİNE KRONİK ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**Meryem ŞAKAR¹Ahmet MENGİ²**ÖZET**

Bu araştırmada ratlara oral olarak verilen Linear Alkil Benzen Sülfonat'ın (LAS) serum ve karaciğerdeki alanin transferaz ve aspartat transferaz aktiviteleri düzeyleri üzerine kronik etkileri incelenmiştir. Elde edilen bulgulara göre, LAS'ın %0.002'lik (0.14mg/kg) ve %0.005'lik (0.35mg/kg) dozlarının ratlarda kronik olarak herhangi bir toksisiteye neden olmayacağı ve ratlar için LAS'ın kronik etkilerininin %0.01 (0.7mg/kg) ile %0.03 (2.1mg/kg) dozlarında ve 120. günden itibaren gerçekleştiği sonucuna varılmıştır.

Anahtar kelimeler: Linear Alkilbenzen Sülfonat, Alanin Transferaz, Aspartat Transferaz

**CHRONIC EFFECTS OF LINEAR ALKYL BENZENE SULPHONATE ON
SERUM AND LIVER ENZYME ACTIVITIES IN RATS****SUMMARY**

In this study, the chronic effects of Linear Alkyl Benzene Sulphonate (LAS) given by oral route, were examined on alanin transpherase and aspartate transpherase enzyme activities in serum and liver of rats. It was concluded that LAS in doses of 0.002% (0.14 mg/kg) and 0.005% (0.35 mg/kg) may not create toxic effects in rats and chronic toxic effects of LAS for rats occur in doses of 0.01% (0.7 mg/kg) and 0.03% (2.1 mg/kg) and in 120th days following the application.

Key words: Linear Alkylbenzene Sulphonate, Alanin Transpherase, Aspartate Transpherase

GİRİŞ

Gelişmiş toplumların günlük hayatını etkileyen maddelerin başında temizleyici ve yıkayıcı maddeler gelmekte ve bu maddelerin tüketimi toplumların medeniyet ölçülerinden birini belirlemektedir. Son yıllarda endüstride ve evlerde çeşitli amaçlarla kullanılan deterjanların tüketiminde hızlı bir artış olmuştur. İyi durulanmayan mutfak eşyaları aracılığıyla deterjan kalıntıları

insan bünyesine alınmaktadır. Deterjanların vücudunda ve çevreye olan olumsuz etkileri ancak 1945'li yıllarda fark edilmiştir. Bu yıllarda deterjanlar üzerinde yapılan çalışmalar sonucunda "aktif madde" olarak kullanılan maddelerin doğada kolaylıkla parçalanamadığı ortaya çıkmıştır. Bu türden deterjanların üretimine devam edilirken öte yandan da çevreye olan zararlı etkileri daha az

¹Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi Bşk.lığı, Aşı-Serum Üretim ve Araştırma Müdürlüğü, ANKARA

²İ.Ü Veterinerlik Fakültesi, Biyokimya Ana Bilim Dalı, İSTANBUL

Geliş tarihi: 05.12.2000 Kabul ediliş tarihi: 16.02.2001

Yazışma Adresi: Meryem ŞAKAR, R.S.Hıfzıssıhha Merkezi Başkanlığı, Aşı - Serum Üretim ve Araş. Müd.,Ankara

olan maddeler üzerinde çalışılmaya başlanmıştır (1-4).

Ülkemizde 1986 yılına kadar tamamıyla Sodyum Dodesil Benzen Sülfonat (DDB) kullanılmıştır. Bu yıldan itibaren "deterjanların toplam aktif madde miktarının en az %50'si parçalanabilir olacaktır" hükmü getirilmiştir (2,5). Sulardaki deterjan konsantrasyonunun birikimini önlemek amacıyla 1965 yıllarında Linear Alkilbenzen Sülfonatlar (LAS) geliştirilmiştir. Bu moleküller düz zincir şeklinde olduğundan biyolojik olarak daha kolay parçalanabilmektedirler (6).

Halkın en çok kullandığı temizlik aracı olan deterjanların yakın bir gelecekte çıkaracağı sorunlar ve biyolojik sistemler üzerine etkileri son zamanlarda merak konusu olmuştur. Günlük yaşantımızda vazgeçilmeyen bu tür kimyasal maddelerin daha bilinçli kullanılması amacıyla bu çalışmada, kronik toksisitelerinin ortaya konulması gerekliliği sonucuna varılmıştır. Bu nedenle iyi durulanmayan mutfak eşyaları ve içme suları gibi çeşitli yollarla insan bünyesine alınan deterjan kalıntılarının neden olabileceği kronik etkiler üzerine yürütülen çalışmalara katkı vermek amacıyla ratlarda oral LAS uygulamasının etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır. Bunun için deterjan formülasyonunda sıklıkla kullanılan anyonik aktif bir madde olan Linear Alkilbenzen Sülfonat (LAS) kullanılmıştır. Bu çalışmada, LAS farklı dozlarda ratlara verilerek serum ve karaciğer dokusunda AST ve ALT aktiviteleri üzerine kronik olarak toksik etkilerinin neler olabileceği tartışılmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmada deney hayvanı olarak Wistar grubu albino erkek ratlar kullanılmıştır. Beş haftalık, 109±5 g. canlı ağırlığında olan 50 adet rat temin edilmiştir. Ratlar, 14 haftalık oluncaya kadar 10'arlı gruplar halinde beş ayrı kafeste beslenmiş ve ortama adaptasyonları sağlanmıştır. Deneme süresince her hayvandan altı kez kan alınmış ve toplam 300 kan örneği ile 50 doku örneğinden 1800 analiz yapılmıştır. Ratlar oda ısı ve neminin sırasıyla 22±2°C ve %60±10 olduğu mekanlarda ticari rat yemi ile ad libitum olarak beslenmişlerdir.

Özel bir deterjan firmasından temin edilen Linear Alkilbenzen Sülfonat (LAS), içme suyu ile altı ay boyunca, Deney-I grubuna %0.0002 (2ppm), Deney-II grubuna %0.0005 (5ppm), Deney-III grubuna %0.001 (10ppm), Deney-IV grubuna %0.003 (30ppm) oranında olmak üzere verilirken, Kontrol grubuna sadece içme suyu verilmiştir.

LAS verilmeye başlandıktan sonraki 30., 60., 90., 120. ve 150. günlerde kuyruk kesme yöntemiyle santrifüj tüplerine kan örnekleri alınmıştır. Kanlar ağız kapalı tüplerde etüvde (37°C)'de bir saat bekletildikten sonra 3000 rpm' de 10 dakika santrifüj edilerek serum örnekleri elde edilmiştir. Serumlar kapaklı plastik ependorf tüplerine alınarak numaralandırılıp -20°C 'deki derin dondurucuya yerleştirilmişlerdir. 180'nci günde hayvanlar kloral hidrat anestezisi ile uyutularak otopsiye alınmıştır. 180'inci günde kan numuneleri otopsi sırasında kabın sağ ventrikülünden steril enjektörlerle alınmış ve ağız kapalı tüplerde etüvde (37°C)'de bir saat bekletildikten sonra 3000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilerek serum örnekleri elde edilmiştir. Serumlar -20°C'lik derin dondurucuya kaldırılmıştır. Daha sonra karaciğer dokuları alınarak yaş ağırlıkları ölçülmüş ve serum fizyolojikle yıkanmıştır. 1g. karaciğer dokusu 2ml serum fizyolojikle karıştırılarak hücreler homojenizatörde parçalanmıştır. Homojenatlar önce 2500-3000 devirde 10 dakika, daha sonra 5000 devirde 15 dakika santrifüj edilmiştir (7-9). Hazırlanan süpernatantlar kapaklı tüplere alınarak -20°C'lik derin dondurucuya yerleştirilmişlerdir. Örnekler toplandıktan sonra serum ve karaciğerde AST ve ALT aktiviteleri tayin edilmiştir (SYS3 BM/Hitachi 747 Sistem Oto-analizörü; Boehringer Mannheim/AST-ALT kitleri).

Karaciğer dokusunda katalitik enzim aktivitesi ve total protein düzeyleri ölçüldükten sonra spesifik enzim aktivitesi; katalitik enzim aktivitesinin total protein değerlerine bölünmesiyle elde edilmiştir (7,9). Elde edilen verilerin istatistikî analizleri, kontrol ve deney grupları arasında t-testi ile yapılmıştır (10).

BULGULAR

Kontrol ve Deney gruplarındaki hayvanların 30., 60., 90., 120., 150. ve 180. günlerdeki serum AST aktiviteleri Tablo 1 ve Grafik 1’de gösterilmiştir.

Kontrol ve Deney gruplarındaki hayvanların 30., 60., 90., 120., 150. ve 180. günlerdeki serum ALT aktiviteleri Tablo 2 ve Grafik 2’de gösterilmiştir.

Serum ALT aktiviteleri Deney-I ve Deney-

Tablo 1: Ratlarda Serumda AST Aktivitesi (IU/L)

Günler	Kontrol			Deneme-1			Deneme-2			Deneme-3			Deneme-4		
	X	Sx	n	X	Sx	n	X	Sx	n	X	Sx	n	X	Sx	n
30.gün	89.19	5.76	7	89.48	5.39	8	90.66	5.45	7	90.02	4.27	7	93.60	3.21	9
60.gün	90.96	5.09	8	90.28	3.71	9	91.40	3.70	9	91.39	3.33	8	93.92	3.49	7
90.gün	91.48	4.08	10	92.94	3.30	9	93.41	4.70	9	94.30	3.30	10	94.49	3.15	9
120.gün	92.08	3.38	8	91.95	3.98	8	94.74	4.17	9	98.98	3.07	7	99.88	3.95	7
150.gün	91.88	3.71	10	91.95	3.94	8	94.02	4.04	8	99.64*	3.67	8	103.84*	3.50	9
180.gün	92.08	4.10	9	91.58	4.01	9	96.83	3.94	7	101.77*	2.95	8	106.24*	3.46	8

*p0.05

Tablo 2: Ratlarda Serum ALT Aktivitesi (IU/L)

Günler	Kontrol			Deneme-1			Deneme-2			Deneme-3			Deneme-4		
	X	Sx	n	X	Sx	n	X	Sx	n	X	Sx	n	X	Sx	n
30.gün	36.65	4.74	7	37.48	3.33	8	38.54	5.86	7	43.07	3.10	7	45.27	3.72	9
60.gün	39.49	4.34	8	41.78	3.72	9	41.82	3.67	9	48.67	3.46	8	47.55	2.99	7
90.gün	40.82	2.06	10	42.68	2.89	9	43.19	4.21	9	49.07	3.27	10	52.12	3.49	9
120.gün	43.04	5.56	8	44.76	6.48	8	46.87	5.69	9	54.81	3.41	7	57.85	3.45	7
150.gün	44.66	3.51	10	45.03	6.52	8	48.88	8.29	8	59.25*	4.48	8	60.99*	4.533	9
180.gün	45.00	5.24	9	47.87	5.90	9	47.47	8.20	7	59.22*	3.46	8	61.00*	4.87	8

*p0.01

30., 60., 90., 120., 150. ve 180. günlerde Deney-I ve Deney-II gruplarında kontrol grubuna göre AST aktivitesi artmış, ancak bu artış istatistikî açıdan anlamlı bulunamazken Deney-III ve Deney-IV gruplarının 150. ve 180. günlerdeki AST aktivitesindeki artışlar anlamlı bulunmuştur (p<0.05).

II gruplarında 120., 150. ve 180. günlerde kontrol grubuna göre artış göstermekle birlikte bu artış istatistikî açıdan anlamlı bulunmamıştır.

Deney-III ve Deney-IV gruplarındaki artışlar ise anlamlı bulunmuştur (p<0.01).

Karaciğer AST ve ALT aktiviteleri Tablo 3 ve Grafik 3’de gösterilmiştir.

Karaciğerde AST aktivitesi, kontrol grubuna

Tablo 3 : Karaciğer AST ve ALT Aktiviteleri

Karaciğer	Kontrol			Deneme-1			Deneme-2			Deneme-3			Deneme-4		
	X	Sx	n	X	Sx	n	X	Sx	n	X	Sx	n	X	Sx	n
AST IU/g protein	3.77	0.34	10	3.68	0.27	9	3.65	0.42	8	2.35*	0.24	8	2.09*	0.18	9
ALT IU/gprotein	3.74	0.34	10	3.66	0.26	9	3.59	0.45	8	2.43*	0.27	8	1.99***	0.28	9

*p<0.01, **p<0.05, ***p<0.001

göre tüm Deneme gruplarında azalmış ancak Deneme III ve Deneme IV gruplarındaki AST aktivitesindeki düşüş, $p < 0.01$ düzeyinde anlamlı bulunmuştur.

Karaciğerde ALT aktivitesi kontrol grubuna göre tüm Deneme gruplarında azalmış, ancak enzim aktivite kaybı Deneme III'te $p < 0.05$ ve Deneme IV'te $p < 0.001$ düzeyinde anlamlı bulunmuştur.

TARTIŞMA VE SONUÇ

Dünyada gittikçe artan bir şekilde üretilip tüketilen deterjanların sularda yarattığı kirlenme, suların canlılar aleminde ortaya çıkardığı olumsuz değişimlerle dolaylı yoldan da olsa kendisini hissettirecek boyutlara ulaşmış bulunmaktadır (11-15).

Anyonik aktif maddelerden Linear Alkilbenzen Sülfonat (LAS) biyolojik olarak oldukça iyi parçalanabildiği için gelişmiş ülkelerde 1965 yılında daldanmış Alkil benzen Sülfonatların (ABS) yerine kullanılmaya başlanmıştır. Türkiye' de ise bu geçiş ancak 1987 yılında gerçekleşmiştir. Biyolojik parçalanması daha kolay olmasına rağmen, yapılan bilimsel çalışmalarda çevrede, sularda ve canlılar üzerinde toksik etkilerinin varlığı bildirilmiştir (2,6).

Bu çalışmada, altı ay boyunca farklı dozlarda LAS verilen ratların serum ve karaciğerdeki çeşitli enzim aktiviteleri ölçülerek LAS'ın kronik etkileri konusunda temel bilgiler elde edilmesi, LAS'ın kronik toksisitesi hakkında daha sonra yürütülecek çalışmalara yardımcı olacak bilgilere çalışılması hedeflenmiştir. Bunun için çalışmada; 50 adet Wistar grubu albino erkek rat kullanılmış ve değişik dozlardaki LAS, içme sularına katılarak verilmiştir. 30., 60., 90., 120., 150. ve 180. günlerde kan alınarak serumda, deneme sonunda ise karaciğerde AST, ALT aktiviteleri ölçülerek metabolik değişiklikler incelenmiştir.

Bu çalışmada da; süttten yeni kesilen bir aylık ratlar alınarak üç aylıktan itibaren altı ay boyunca LAS verilmiştir. Çalışmada, kontrol grubu ratların serum AST aktivitesi, 30. gün 89.39 IU/L, 60. gün

90.96 IU/L, 90. gün 91. 48 IU/L, 120. gün 92. 08IU/L, 150. gün 91.88 IU/L, 180. gün 92. 08 IU/L olarak bulunmuştur.

LAS verilen ratlarda ise doz ve zamana bağlı olarak serum AST aktivitesi artış göstermiştir. Bunlardan Deneme III grubunda 150. günde 99. 64 IU/L, 180. günde 101.77 IU/L Deneme IV grubunda 150. günde 106.84 IU/L, 180. günde ise 106.24 IU/L olarak ölçülmüş ve kontrol grubuna göre bu artışlar $p < 0.05$ düzeyinde anlamlı bulunmuştur (Tablo 1, Grafik 1).

Karaciğer AST spesifik aktivitesi kontrol grubunda 3.77 IU/g protein, Deneme I'de 3.68 IU/g protein, Deneme II'de 3.65 IU/g protein, Deneme III'te 2.35 IU/g protein, Deneme IV'te ise 2.09 IU/g protein olarak saptanmıştır (Tablo 3, Grafik 3) Kontrol grubuna göre tüm Deneme gruplarında aktivite kaybı saptadık. Ancak bunlardan Deneme III ve Deneme IV gruplarındaki aktivite kaybı $p < 0.01$ düzeyinde anlamlı bulunmuştur (Tablo 3, Grafik 3).

Serum ALT aktivitesi kontrol grubunda 30. gün 36.65 IU/L, 60. gün 39.49 IU/L, 90. gün 40.82 IU/L, 120. gün 43.04 IU/L, 150. gün 44.66 IU/L, 180. gün 45.00 IU/L olarak bulunmuştur. Deneme gruplarında ise doz ve zamana bağlı olarak ALT aktivitesi artmıştır. Bunlardan Deneme III ve Deneme IV gruplarında 180. günde sırasıyla 59.22 IU/L ve 63.00 IU/L olarak saptanmış olup kontrol grubuna göre bu ALT aktivite artışları $p < 0.01$ düzeyinde anlamlı bulunmuştur (Tablo 2, Grafik 2).

Karaciğerde kontrol grubunun ALT spesifik aktivitesi 3.74 IU/g protein, Deneme I'in 3.66 IU/g protein Deneme II'nin 3.59 IU/g protein, Deneme III'ün 2.43 IU/g protein, Deneme IV'ün ise 1.99 IU/g protein olarak saptanmıştır (Tablo 3, Grafik 3). Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında Deneme gruplarının tümünde ALT spesifik aktivitesinde azalma olduğu saptanmıştır. Ancak bu aktivite kayıpları Deneme III'te $p < 0.05$ düzeyinde ve Deneme IV'te ise $p < 0.001$ düzeyinde anlamlı bulunmuştur.

Froebe ve ark. (16) LAS içeren deterjanların

hücre membranında bulunan lipidleri çözdüğünü, proteinleri denatüre ettiğini ve enzim aktivitelerinde inhibisyona neden olduğunu rapor etmiştir.

Putnam (17), sentetik deterjanların proteinleri yüksek düzeylerde denatüre etme özelliğine sahip olduklarını, belirli miktardaki protein moleküllerini denatüre edebilmek için bir sentetik deterjanın belirli düzeylerde bulunması gerektiğini, 10 ml deterjan solüsyonunun ancak 10 mg methemoglobini denatüre etmeye yeterli olabileceğini, artan protein miktarı için daha fazla deterjan solüsyonunun gerektiğini rapor etmiştir.

Moriyama ve ark. (18) tarafından deterjanların enzimleri denatüre ettikleri, hücre membranı ve mitokondrial membranların geçirgenliğini değiştirdikleri bildirilmiştir.

Zaccone ve ark (19) LAS'ın hücre permeabilitesini etkilediğini bunun da hücre içeriklerinin, hücreler arası boşluk ve seruma salgılanmasında etkili olduğunu rapor etmişlerdir.

Bu çalışmada da hücre içi enzimleri olan ALT ve %40 ile %60'ı mitokondrilerde bulunan AST'nin mitokondri membranının bozulmasıyla stoplazmaya ve oradan da hücre dışına çıkarak kana geçmesiyle serum enzim aktiviteleri yükselmiştir. Elde edilen sonuç Zaccone, Froebe ve Putnam'ın çalışmalarıyla uyumludur (16,17,19).

Karaciğerde ALT ve AST enzimlerinin spesifik aktivitelerinin azalması, karaciğere portal yolla gelen LAS'ın hücre zarlarının permeabilitesini bozarak (17,19,20) hücre içindeki enzimlerin hücre dışına çıkarak kana geçmesi ve karaciğer hücrelerindeki enzim aktivitelerinin bu şekilde kayıpları ile ifade edilebilir. Başka bir açıklama ise; enzimlerin LAS tarafından inhibe edilmesidir (21). Anyonik deterjanların enzim ve hormonları denatüre ettiği bunun deterjanın proteinin amino grupları ile kombinasyonundan kaynaklandığı rapor edilmiştir (17).

Misra ve ark. (19), Cirrhina mrigala türü balıkları, 0.005 ppm konsantrasyonunda LAS'a maruz bırakarak meydana gelen uyuşukluk, düzensiz yüzme, denge kaybı gibi davranış bozuklukları, atmosferik havayı yutmada güçlük, solunumdaki fonksiyon bozukluğuna bağlı olarak

fazla mukus salgısı, ciltte koyu renkli pigmentasyonlar, 0.03 ppm konsantrasyonunda LAS uygulamasına maruz kalan balıklarda mukoza hücrelerinin irrite, membran proteinlerinin ise denatüre olduğunu rapor etmişlerdir.

LAS'ın ratlarda metabolik enzimler üzerinde kronik etkilerini gösteren araştırmalar çok sınırlı sayıda olmakla beraber Lewis (4) suda yaşayan canlılarda LAS'ın 0.1mg/L nin konsantrasyonun üzerinde kronik toksisite oluşturduğunu rapor etmiştir.

Bu çalışmada % 0.0002 oranında LAS alan Deneme I grubunun günlük olarak aldığı LAS miktarı 0.14 mg/kg, % 0.0005 oranında LAS alan Deneme II grubunun 0.35 mg/kg, % 0.001 oranında LAS alan Deneme III grubunun 0.70 mg/kg, % 0.003 oranında LAS alan Deneme IV grubunun ise 2.1 mg/kg'dır.

Deneme I ve Deneme II grubu ratlarda kontrol grubu ile karşılaştırdığımızda altı ay boyunca serum ve karaciğer enzim aktiviteleri istatistiki açıdan önemli bir değişiklik meydana gelmemesi, 70 kg ağırlığındaki bir insanın günde yaklaşık 0.18 mg/kg oranında LAS aldığı düşünüldüğünde bu miktarın vücutta kronik olarak toksik bir etki oluşturmadığı saptanmıştır.

Bu çalışmada LAS'ın ratlar için kronik olarak toksikolojik etkisi, Deneme III grubunda ve 120. günden sonra başlamış ve 0.70 mg/kg, 2.1mg/kg dozlarında 150. gün ile 180. günlerde de görülmüştür. Bu sonuç Fitzhugh ve ark. (22)'nin LAS'ın kronik toksisitesinin 0.63 mg/kg dozunda başladığını belirttikleri çalışmaları ile de uyumludur.

Sonuç olarak günde 0.14 mg/kg oranındaki LAS (%0.0002) ve 0.35 mg/kg oranındaki LAS (%0.0005) ratlar için kronik toksisite yönünden güvenilir bulunmuştur.

İçme suları, iyi durulanmayan kaplardaki yemeklerle ve birçok nedenlerle insanların alabileceği 0.14 mg/kg ve 0.35 mg/kg 'lık LAS oranlarının (22) serum ve karaciğerdeki ALT, AST aktiviteleri üzerine kronik olarak toksik etki göstermeyeceği ve günlük olarak alınan bu miktarların insan sağlığı için kronik olarak toksikolojik bir etkisi olmadığı sonucuna

varılmıştır. Dolayısı ile deterjan formülasyonundaki temel yüzey aktif maddesi olan LAS'ın belirtilen miktarlarında halk sağlığı yönünden bir tehlikesi yoktur.

KAYNAKLAR

1. Anonim. TÜBİTAK Tıp Araştırma Grubu. Deterjanların İnsan Sağlığı Üzerine Etkileri İhtisas Komisyonu Toplantı Raporu 1987; 1-14.
2. Anonim: The panel for negative effects of detergents to environmental water resources and the health of human. Eler Matb İstanbul 1986; 5-61.
3. Kumbur H. Sentetik deterjanlar ve yarattıkları çevre sorunları. G Ü Müh Mim Fak 1988; 14-21.
4. Lewis MA. Chronic and sublethal toxicities of surfactants to aquatic animals: a review and risk assesment. Wat Res 1991; 25 (1): 101-113.
5. Field AJ, Miller DJ, Field TM, Hawthorne S B, Giger W. Quantitative determination of sulfonated aliphatic surfactants in sewage sludge by ion pair/supercritical fluid extraction and derivatization gas chromatography/mass spectrometry. Anal Chem 1992; 64: 3161-3167.
6. Sigoillot JC, Nguyen MH. Complete oxidation of linear alkylbenzene sulfonate by bacterial communities selected from coastal seawater. Appl Environ Microbiol 1992; 10: 1308-1312.
7. Özcan A, Mengi A. Ratlarda oral olarak verilen alkolün serum, karaciğer ve böbrekteki gama- GT, ALT ve AST düzeyleri ile karaciğer yağlanması üzerine etkileri. J Vet Animal Sci 1998; 20: 181-185.
8. Perk M, Mengi A. Sığırlarda karaciğer hücreleri ile serumda GOT, GPT enzimlerinin saptanması. İstanbul Üniv Vet Fak Derg 1993; 19 (2): 133-138.
9. Şener S. Etanolün kobayda karaciğer ve serum gamma glutamil transferaz (GGT) aktivitesi üzerine etkisi. İstanbul Üniv. Vet. Fak. Derg. 1988; (14) 2: 1-10.
10. Sümbüloğlu K V. Biyoistatistik. Hacettepe Ü Tıp Fak 1989; ISBN 975 7527; 12.
11. Agarwal C, Mathur AK, Gupta BN, Singh A, Shanker R. Synthetic detergents induced biochemical and histological changes in skin of guinea pigs. Indusexperimental Toxicol Res Centre 1990; 36: 316-318.
12. Bielinska T. Dielectric, haematological and biochemical studies of detergent toxicity in fish blood. Phys Med Biol 1987; 32 (5): 623-635.
13. Buehler EV, Newmann EA, King R. Two-year feeding and reproduction study in rats with linear alkylbenzene sulfonate (LAS). Toxicol Appl Pharmacol 1971; 18: 83-91.
14. Daily LW, Schroeder RE. A teratology study of topically applied linear alkylbenzene sulfonate in rats. Fd Cosmet Toxicol 1980; 18: 55-58.
15. Hwang D E, Chen M Y, Yoshida T, Jeng S S. Toxic effects of linear alkylbenzene sulfonate on the tiger prawn penaeus monodon. Ecotoxicol Environ 1993; 26: 285-292.
16. Froebe C L, Simon F A, Rhein L D, Cagan R H, Kligman A. Stratum corneum lipid removal by surfactants: relation to in vivo irritation Dermatol 1990; 181: 277-283.
17. Putnam F W. The interactions of proteins and synthetic detergents. Adv Protein Chem 1948; 4: 79-122.
18. Moriyama R, Malino S. Effect of detergent on protein structure. Action of detergents on secondary and oligomeric structures of band 3 from bovine erythrocyte membrans. Biochem Bioph A 1985; 832: 135-141.
19. Misra V, Lal M, Chawla G, Viswanathan PN. Pathomorphological changes in gills of fish fingerlings (cirrhinamrigalaj by linear alkyl benzene sulfonate. Ecotoxicol Environ 1985; 10: 302-308.
20. Adachi K, Matsuhashi T, Nishizawa Y, Usukura J, Popinigis J, Wakabayashi T. Studies on urea synthesis in the liver of rats treated chronically with ethanol using perfused livers, isolated hepatocytes, and mitochondria. Biochem Pharmacol 1997; 50 (9): 1391-1399.
21. Almdal TP, Vilstrup H. Strict insulin therapy normalues organ nitrogen contents and the capacity of urea nitrogen synthesis in experimental diabetes in rats. Diabetol 1988; 1 (31): 114-118.
22. Fitzhugh G, Nelson A. Chronic oral toxicities of surface active agents. J Am Pharm Assoc 1987; 37: 29-32.