

Bölüm 3

IN VITRO MODELLEMELERDE ZEBRA BALIĞI-2: KARACİĞER ORGANOTİPİK KÜLTÜRÜNDE SODYUM LAURİL SÜLFAT AKUT TOKSİSİTESİ

Burak GÖKÇE¹
Sema İŞİSAĞ ÜÇÜNCÜ²

Kimyasal maddelerin risk analiz süreçlerinde yer alan akut ve kronik toksisite testleri, söz konusu maddelere kısa veya uzun süreli maruziyeti sonucunda canlıda ortaya çıkabilecek etkilerin belirlenmesini amaçlar. Bu testler ya doğrudan hayvan modellerinin kullanıldığı *in vivo* yöntemlerle; ya da hayvan hakları ve refahına yönelik etik kaygılar ve hayvan kullanımında karşılaşılan diğer teknik zorluklar uzantısında *in vitro* uygulamalarla gerçekleştirilir (Liebsch & Spielmann, 2002; Holme & Dybing, 2003). ABD Ulusal Toksikoloji Programı çerçevesinde yayımlanmış olan “Akut Sistemik Toksisitenin Değerlendirilmesi İçin In Vitro Yöntemler Hakkında Uluslararası Çalıştay Raporu” başlıklı belgede (NTP, 2001); 347 kimyasal maddenin hem fareler, hem de sıçanlara ait medyan inhibitör konsantrasyon 50 (IC₅₀) değerleri ve medyan letal doz (LD₅₀) değerleri beraberce kaydedilmektedir. Kayıtlara göre özellikle *in vitro* sitotoksosite testleri ile *in vivo* letalite testleri arasında büyük bir korelasyon vardır (Buchwald, 1984; Guillouzo, 1998; Guillouzo & ark., 2007; Kandárová & Letasiova, 2011; Erkekoglu & ark., 2015). Dolayısıyla, akut toksisite testleri için *in vitro* uygulamaların kullanım alanı giderek genişlemektedir.

Birçok parametrenin değiştirilmesine ve etkilerin sürekli olarak, kalitatif ve kantitatif biçimde gözlenmesine olanak sağlayan kontrollü bir kültür ortamı büyük bir çalışma kolaylığı sunar. Bu ortamlar çeşitli organ ve dokulardan alınan, büyüme ve gelişimleri değişik hücrelerle oluşturulabilen bu ortamlarda pH, sıcaklık, besiyer gibi değişkenler denetlenebilir. Daha da önemlisi farklı sürelerde ve konsantrasyonlarda, tek tek ya da kombine biçimde uygulanacak kimyasalların etkileri hızla gözlenip rapor edilebilir. Bu sayede zenobiyotiğe spesifik hücre tipini belirlemek, hatta kimyasalın hangi etkisi incelenmek isteniyorsa ona göre hücre

¹ M. Sc. Biyolog, Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü 35100 Bornova-İZMİR, burakgokce00@gmail.com

² Prof. Dr., Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü 35100 Bornova-İZMİR, sema.isisag@ege.edu.tr

yıda temizlik malzemesinde; ayrıca şampuan, diş macunu, losyon vb. birçok kişisel bakım ve kozmetik ürününde çok yaygın kullanılır. Anyonik sürfaktanlar peptid, protein, enzim ve DNA gibi biyoaktif makromoleküllere bağlanarak yapısal ve işlevsel değişikliklere yol açarlar. SLS'nin sucul ekosistemlerde ve özellikle farklı balık türlerindeki etkileri geniş biçimde değerlendirilmiştir (Lewis, 1991; Çetin, 2015). Buna göre SLS deride, solungaç epitelinde, tat tomurcukları ve koklama duyusuna ait organlarında, gözlerde, karaciğerde, dalakta, böbrekte, pankreasta, bağırsakta ve yağ dokusunda toksik etkiler göstermekte; yani solunum, sindirim ve sinir sistemlerini, su-tuz dengesini, ayrıca kan yapım süreçlerini ve endokrin metabolizmayı ve gelişim süreçlerini etkilemektedir.

SLS'nin *D. rerio* üzerindeki etkileriyle ilgili çok az sayıdaki araştırmada (Funfak & ark., 2007; Martins & ark., 2007; Wang & ark., 2015) özellikle gelişim biyolojisi üzerinde çalışılmıştır. Wang & ark. (2015) 0,1 µg/ml konsantrasyonda SLS'nin zebra balığı embriyoları ve larvalarında belirgin anomaliler oluşturduğunu rapor etmişlerdir. Hem bu rapor, hem de sunulan araştırmada izlenen nukleus anomalileri, SLS'nin gelişim biyolojisi süreçlerinde ve genotoksik mekanizmalar üzerinden etkili olabileceğini akla getirmektedir. Ama izlenen kaynaklarda söz konusu maddenin genotoksik olduğuna dair bir veri yoktur, bu olası riskler daha detaylı çalışmalarla incelenmesi gerekmektedir.

KAYNAKÇA

- Arnaout, W.S., Moscioni, D., Barbour, R.L. et al. (1990). Development of Bioartificial Liver: Bilirubin Conjugation in Gunn Rats. *Journal of Surgical Research*, 48:379-382.
- Barr, J., Weir, A.J, Brendel, K., et al. (1991). Liver Slices in Dynamic Organ Culture. 1. An Alternative *In vivo* Technique for the Study of Rat Hepatic Drug Metabolism. *Xenobiotica*, 21:331-339.
- Beamand, J.A., Price, R.J., Cunningham, M.E. et al.(1993). Culture of Precision-Cut Liver Slices: Effect of Some Peroxisome Proliferators. *Food and Chemical Toxicology*, 31:137-147.
- Bessems, M., Hart, N.A., Tolba, R. et al. (2006). The Isolated Perfused Rat Liver: Standardization of a Time-Honoured Model. *Laboratory Animal*, 40(3):236-246.
- Brouwer, K.L.&Thurman, R.G. (1996). Isolated Perfused Liver. *Pharmaceutical Biotechnology*, 8:161-192.
- Buchwald, M.. (1984). Use of Cultured Human Cells for Biochemical Analysis. *Clinical Biochemistry*, 17(3):143-150.
- Catapano, G. (1996). Mass Transfer Limitations to the Performance of Membrane Bioartificial Liver Support Devices. *International Journal of Artificial Organs*, 19:18-35.
- Çetin, T. (2015). Sodyum Lauryl Sülfat'ın *Poecilia reticulata*'nın Başböbreği Üzerine Etkilerinin Histolojik İncelenmesi. Doktora Tezi, Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 157 sayfa.
- Erkekoglu, P., Elnour, A., Kocer-Gumusel, B., et al. (2015). Cellular and Molecular Aspects of Drug-Induced Liver Toxicity: Recent Prominent Mechanisms. *MOJ Toxicology*, 1(5):156-61.
- Fasinu, P., Bouic, P.J., Rosenkranz, B. (2012). Liverbased In vitro Technologies for Drug Biotransformation Studies-A Review. *Current Drug Metabolism*, 13(2):215-24.
- Ferrero, J.L & Brendel, K. (1997). Liver Slices as a Model in Drug Metabolism. *Advances in Pharmacology*, 43:131-69.

- Funfak, A., Brösing, A., Brand, M. et al. (2007). Micro Fluid Segment Technique for Screening And Development Studies on *Danio rerio* Embryos. *Lab on a Chip*, 7: 1132–1138.
- Guillouzo A. (1998). Liver Cell Models in *In vitro* Toxicology. *Environmental Health Perspectives*, 106, Suppl 2:511-532.
- Guillouzo, A., Corlu, A., Aninat C. et al. (2007). The Human Hepatoma HepaRG Cells: a Highly Differentiated Model for Studies of Liver Metabolism And Toxicity of Xenobiotics. *Chemico-Biological Interactions*, 168(1):66- 73.
- Holme, J.A. & Dybing, E. (2002). The Use of *In vitro* Methods for Hazard Characterisation of Chemicals. *Toxicology Letters*, 127(1-3):135-41.
- Howard, R.B., Christensen, A.K., Gibbs, F.A. et al. (1967). The Enzymatic Preparation of Isolated Intact Parenchymal Cells from Rat Liver. *Journal of Cell Biology*, 35(3):675-84.
- Jaeschke, H., Gores, G.J., Cederbaum, A. et al. (2002). Mechanisms of Hepatotoxicity. *Toxicological Sciences*, 65(2):166-76.
- Kandárová, H. & Letašiova S. (2011). Alternative Methods in Toxicology: Pre-Validated and Validated Methods. *Interdisciplinary Toxicology*, 4(3):107-113.
- Kustermann, S., Schmid, S., Biehlmaier, O., et al. (2008). Survival, excitability, and transfection of retinal neurons in an organotypic culture of mature zebrafish retina. *Cell and Tissue Culture Research*, 332(2):195-209.
- Lahne, M., Gorsuch, R.A., Nelson, CM., et al. (2017). Culture of Adult Transgenic Zebrafish Retinal Explants for Live-cell Imaging by Multiphoton Microscopy. *Journal of Visualized Experiments* 120:e5535: 1-10.
- Langenberg, T., Brand, M., Cooper, M.S. (2003). Imaging Brain Development and Organogenesis in Zebrafish Using Immobilized Embryonic Explants. *Developmental Dynamics*, 228:464 – 474.
- Lerche-Langrand, C.& Toutain, H.J. (2000). Precision-cut Liver Slices: Characteristics and use for *In vitro* Pharmacotoxicology. *Toxicology*, 153(1-3):221-53.
- Lewis, M.A. (1991). Chronic and Sublethal Toxicities of Surfactants to Aquatic Animals: A Review and Risk Assessment. *Water Research*, 25(1):101–13.
- Liesch, M. & Spielmann, H. (2002). Currently Available *In vitro* Methods Used in the Regulatory Toxicology. *Toxicology Letters*, 127(1-3):127-34.
- Martins, J., Oliva, Teles, L., Vasconcelos, V. (2007). Assays with *Daphnia magna* and *Danio rerio* as Alert Systems in Aquatic Toxicology. *Environment International*, 33(3): 414-425
- NTP (2001). Report of the International Workshop on *In Vitro* Methods for Assessing Acute Systemic Toxicity. pp.137.
- Nonaka, H., Ise, H., Sugihara, N. et al. (2003). Development of Highly Functional Long-Term Culture Method of Liver Slice Embedded in Agarose Gel for Bioartificial Liver. *Cell Transplantation*, 12:491-498.
- Soldatow, V.Y., Lecluyse, E.L., Griffith, L.G. et al. (2013). *In vitro* Models for Liver Toxicity Testing. *Toxicological Research* (Camb), 2(1):23-39.
- Wang, Y, Zhang Y, Li X, et al. (2015). Exploring the Effects of Different Types of Surfactants on Zebrafish Embryos and Larvae. *Scientific Reports*, 5:101-107.