



Diisobutyl Phthalate'ın (DIBP) Sıçan Karaciğeri Üzerine Histopatolojik Etkileri

Merve AKYILDIZ, Yücel BAŞIMOĞLU KOCA*

Adnan Menderes Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, TR-09010 Aydın, Türkiye

Received: 08.06.2015; Accepted: 16.07.2015

Özet. Bu çalışmada, plastikleştirici olarak yaygın kullanılan fitalatlardan Diisobutyl phthalate'ın (DIBP) karaciğer dokusu üzerine etkilerinin histopatolojik yönden belirlenmesi amaçlanmıştır. Araştırmada Wistar albino cinsi sıçanlar (n=10/grup) kullanılmıştır. Çalışma kontrol, mısır yağı verilen kontrol ve deney grubu olarak üçe ayrılmıştır. Deney grubu hayvanlara 28 gün boyunca her gün üç farklı dozda (0.25-0.5-1ml/kg/gün) DIBP mısır yağı ile karıştırılarak gavaj yolu ile verilmiştir. Deneyin sonunda kontrol ve deney gruplarına ait tüm hayvanlardan alınan karaciğer doku örnekleri rutin ışık mikroskop histolojik preparasyon işlemlerinden (fiksasyon, dehidrasyon, blokama, kesit alma, boyama, kapatma) sonra ışık mikroskopunda (Olympus BX51) incelenip değerlendirilmiştir. Histolojik incelemelerde kontrol ve mısır yağı kontrol grupları arasında histolojik açıdan farklılık olmadığı görülmüştür. DIBP uygulama gruplarında ise dozla bağlı olarak artış gösteren lobulasyonda bozulma, fokal hepatoselüler nekroz, hepatik arter ve merkezi venlerde ödem, kongesyon, sinuzoidlerde genişleme, hepatositlerde sitoplazmik eosinofil, vakuolizasyon, glikojende azalma ve nükleuslarda şekil değişimi belirlenmiştir. Sonuç olarak DIBP'nin hepatotoksik olduğu ve karaciğer dokusunda geri dönüşümü olmayan ciddi histopatolojik değişikliklere yol açtığı tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Diisobutil fitalat, karaciğer, histopatoloji, sıçan

Histopathological effects of Diisobutyl Phthalate (DIBP) on Rat Liver

Abstract. The aim of this study is to investigate the histopathological effects on the liver tissues of widely used as plasticizer Diisobutyl phthalate (DIBP). In this study *Wistar albino* (n=10) rats were used. Three study groups were created: an experimental group, a control group fed with corn oil and a control group. The experimental group were administered by gavaj daily with 3 different dosages (0.25 - 0.5 - 1 ml/kg/day) of DIBP mixed with corn oil for 28 days. The liver tissue sections after rutin histological preparation processes were examined and photographed using an Olympus BX51 light microscope. It was determined from the analyses that there was no significant histological difference between the control and the corn-oil fed control group. The group which was administered DIBP displayed deterioration in lobulation, focal hepatocellular necrosis, oedema in hepatic artery and vena centralis, decrease in glycogen and distortion of nucleus shape in relation to the dosage of DIBP they received. As a result, it has been determined that DIBP is a hepatotoxic substance and has been found to cause irreversible serious histopathological changes in liver tissue.

Keywords: Diisobutyl phthalate, liver, histopatology, rat

1. GİRİŞ

Modern dünyada, hayatı kolaylaştırıyor gibi görünen ancak sağlığımızı tehlikeye sokan birçok ürün vardır. Çevrede bulunan insan yapımı veya doğal olarak bulunabilen östrojenik, anti-östrojenik ya da anti-androjenik etkiye sahip bu kimyasal maddeler endokrin sistemin

*Corresponding author. Email: ykoca66@yahoo.com; Tel: +90 256 2128498/2128

bozulmasına neden olmaktadır [1]. Endokrin sistemi etkilediği bilinen kimyasallar arasında plastiklerin üretiminde kullanılan fitalatlar da yer almaktadırlar.

Fitalik asit esterleri olan fitalatlar; plastik yapımında plastiklerin sertleşmesi, yumuşaması ve esnekliklerinin artırılması için kullanılan plastikleştiricilerdir (plastifiyan). Ortak tüketim ürünlerinde bulunan fitalatlar, yüksek üretim hacmi olan ve günlük yaşamda çok maruz kalınan sentetik kimyasallardır. Plastiklere sıkıca bağlanmadıkları için zamanla serbest kalabilirler. Bu kimyasalların diester formları bağırsaklar, karaciğer ve kandaki esterazlarca hızla, üst düzey toksik olarak kabul edilen, monoester formlarına hidrolize edilirler [1]. Bu maddelerin çoğu yağda eriyerek, yağ dokusunda birikebilir. Yıkılıp zararsız hale getirilme işlemi zor olduğu ve vücutta uzun süre kalabildiği için zararlı etkilere neden olabilirler [2,3].

İnsanlar ve doğal yaşamda bulunan canlılar fitalatlara solunum, oral ve dermal yolla maruz kalmaktadırlar. Fitalatların ev içi ve ev dışındaki havada bulunan miktarları tespit edilebilmektedir. Saito ve diğerleri (2001) [4] yaptığı çalışmada, yeni yapılmış bir evde Dietilheksil fitalat (DEHP) ve Dibütil fitalat (DBP) miktarını ölçtüklerinde sırasıyla 1046 ve 841 ng/m³ olduğunu ve ayrıca havada Dimetil fitalat (DMP), Dietil fitalat (DEP), Bütilbenzil fitalat (BBP), Diisobütil fitalat (DIBP) ve Dikloroheksil fitalat'ın da bulunduğunu tespit etmişlerdir. Ambalajlarda, paketlenme filmlerinde, kutularda, sadece mikrodalga fırında kullanılan kutularda, kaşık, bardak ve tabaklar gibi yiyecek için kullanılan 25 değişik plastik üründe fitalatlar saptanmış ve Dikloroheksil fitalat'ın bu maddelerde 0,05 -15 mg/kg oranında bulunduğu tespit edilmiştir [5]. Benzer bir çalışmada, besinleri ambalajlamak için kullanılan filmlerin üzerindeki mürekkeplerde bulunan Dikloroheksil fitalat'ın yaklaşık %6'sının (0,01'den az-18,6 mg/kg) besin maddesine geçtiği gösterilmiştir [6]. Okubo ve diğerleri (2003) [7] sucul çevrede bu bileşiklerin nehir suyu, atık su örnekleri ve içme suyunda bulduklarını söylemişlerdir. DMP, DBP, DEHP ve bunların monoesterlerini Tama Nehri'nde litrede mikrogram seviyesinde tespit etmişlerdir.

Diisobütil fitalat (DIBP), uçucu olan özel bir plastikleştirici madde olarak kabul edilir ve genellikle diğer fitalatlar ile birleştirilir [8]. Bu madde oje, yakıt dengeleyici, vernik, beton katkı maddesi olarak, patlayıcı ajan olarak, kurşun kromat, boya pigmentlerinde, kozmetikte, madeni yağ yapımında, zemin halılarında, mobilya kumaşlarında, giyim uygulamalarında, kauçuk diş hekimliği malzemelerinde, cila üretim ve metil metakrilat uygulamalarında kullanılmaktadır. Ayrıca DIBP kağıt, ambalaj ve baskı mürekkepleri için kullanılır [9].

Diisobutyl Phthalate' ın (DIBP) Sıçan Karaciğeri Üzerine

Plastikteki yüksek miktarlarının ve plastikten taşınabilme özelliklerinin yanı sıra geniş çaplı üretimleri ve kullanımları nedeniyle ftalatların birçoğu sık rastlanan çevre kirleticilerinden olup, doğada ve maruz kalan canlıların vücudunda birikebilmekte dolayısıyla çevre ve insan sağlığı için oldukça etkili ve kalıcı tehlikeler oluşturabilmektedir. Bu nedenle bizim çalışmamızda da DIBP'ın karaciğer dokusuna olası etkilerinin histopatolojik yönden incelenmesi amaçlanmıştır.

2. MATERYAL ve METOT

Çalışma, ADÜ-Hayvan Deneyleleri Yerel Etik Kurulundan izin alındıktan sonra yapılmış (HADYEK karar no: 2013/006) ve deney hayvanlarının bakımına ilişkin Hayvan Etik Kurulu uygulamalarına özen gösterilmiştir. Çalışmada, ADÜ-Veteriner Fakültesi deney hayvanları üretim ve deneysel araştırma laboratuvarından temin edilen, eşeyssel olgunluğa erişmiş, 2-3 aylık, yaklaşık 200-300 gr ağırlığında toplam 40 adet (20 dişi 20 erkek) Wistar albino sıçan kullanılmıştır. Sıçanlar deney süresi boyunca 12/12 saat aydınlık/karanlık ışıklandırması olan, sıcaklığı $21\pm 2^{\circ}\text{C}$ ve nemi ise % 50-55 olarak ayarlanmış odalarda ve şeffaf kafeslerde barındırılmıştır. Standart yem ve içme suyu ad libitum olarak verilmiştir.

Rastgele seçilen hayvanlar kontrol ve deney grubu olarak ayrılmıştır. Kontrol grupları kendi aralarında herhangi bir madde uygulanmayan kontrol grubu (n: 10) ve mısır yağı verilen kontrol grubu (n: 10) olarak ikiye ayrılmıştır. Deney grupları ise 0.25-0.5 ve 1 ml/kg dozlarda DIBP uygulanan üç gruba ayrılmıştır. Her deney grubu 10 sıçandan oluşturulmuştur. Deneyde kullanılan DIBP'ın (CAS No: 84-69-5) uygulama dozu literatürde belirtilen LD50 dozu (sıçanlar için, oral 10.400 mg/kg vücut ağırlığı) esas alınarak belirlenmiştir [10,11]. Mısır yağı ile karıştırılarak hazırlanan DIBP'ın belirlenen dozları deney gruplarındaki hayvanlara, OECD'nin (1995) [12] 407 nolu rehberinde açıklandığı gibi, 28 gün boyunca her gün oral gavaj yöntemi ile verilmiştir. Deneyin sonunda kontrol ve deney gruplarına ait tüm hayvanlar anestezi altında servikal dislokasyon ile sakrifiye edilmiştir.

Işık mikroskopik incelemeler için deney hayvanlarından alınan karaciğer doku örnekleri tamponlanmış nötral formalin (TNF) ($+4^{\circ}\text{C}$ 'de 48 saat) ve Saint-Marie (99cc %95 alkol+ 1cc glacial asetik asit) tespit solüsyonu ile ($+4^{\circ}\text{C}$ 'de 24 saat) tespit edildikten sonra rutin histolojik preparasyon işlemleri (dehidrasyon, bloklama, kesit alma) yapılmıştır. Parafin bloklardan

Rotary mikrotomla 5-7 μ kalınlığında alınan kesitler histolojik genel yapı için Hematoksilen-Eosin (Mayer's), bağ dokusu için Gomori trikrom, hepatositlerde depolanan glikojen için Periodik asit Schiff (PAS) ile boyanmıştır [13]. Hazırlanan preparatlar mikroskopta (Olympus BX51) incelenerek farklı büyütmelede fotoğrafları (Olympus E-330 dijital kamera) çekilmiştir. Ayrıca üç farklı boyama tekniği uygulanmış tüm grupların doku kesitlerinde belirlenen histopatolojik parametreler en azdan en fazlaya doğru artan skalada değerlendirilmiştir (Tablo 1), (-; herhangi bir etki görülmeyen, +; az derecede görülen, ++; orta derecede görülen, +++; sık derecede görülen, ++++; çok sık derecede görülen).

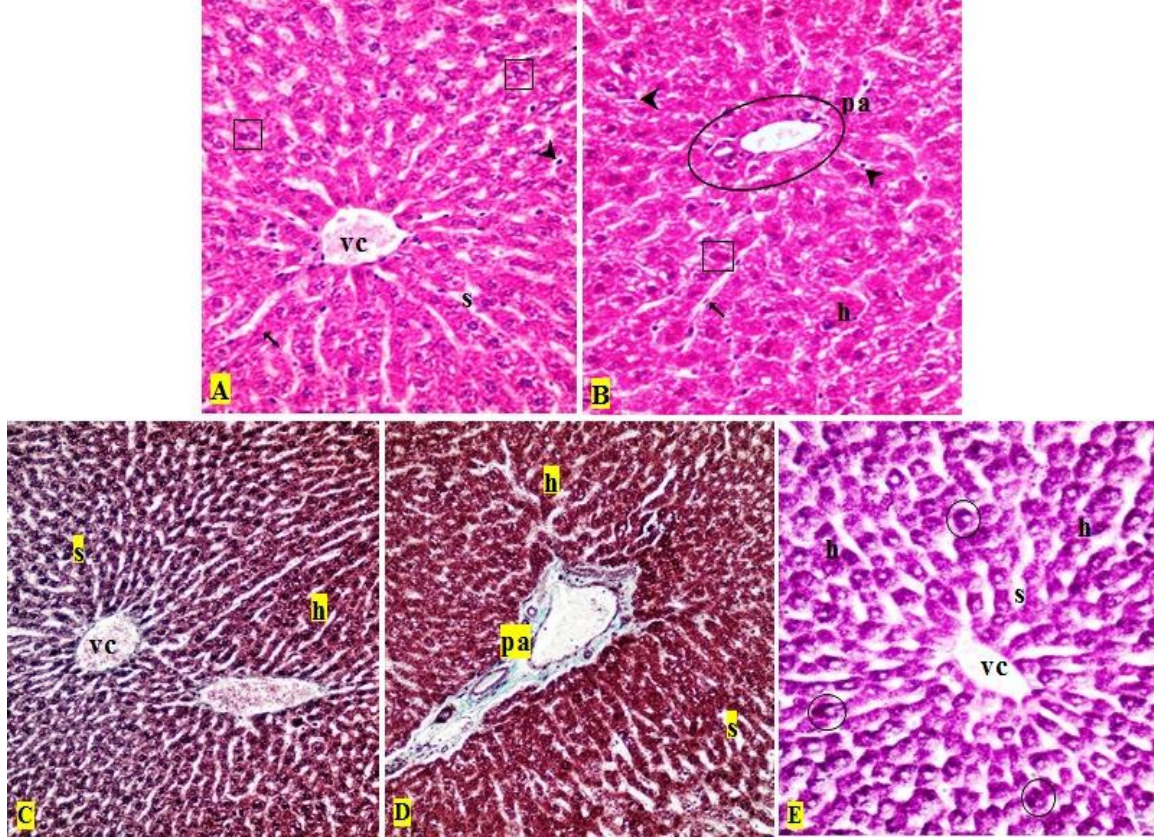
3. BULGULAR

Histolojik incelemelerde kontrol ve mısır yağı kontrol grupları arasında histolojik açıdan farklılık olmadığı görülmüş, bu nedenle kontrol grubu temel alınmış ve bu doğrultuda histopatolojik değerlendirmeler yapılmıştır. Kontrol grubuna ait örneklerde karaciğer dokusu, merkezi ven etrafında belirgin koyu nükleuslara sahip ve hücre sınırları düzgün, poligonal hepatositler ile bu hücrelerin aralarında uzanan sinüzoidler içeren hepatik lobüllerden oluşmuştur (Şekil 1A,C). Hepatik lobulusun köşelerinde hepatik arter, portal ven ve safra duktusu (portal triad) içeren portal alan bulunmaktadır (Şekil 1B,D). PAS reaksiyonu uygulanmış kesitlerde, lobulusun hem merkezinde hem de periferinde yer alan hepatositler yoğun glikojen partikülleri içermektedir (Şekil 1E).

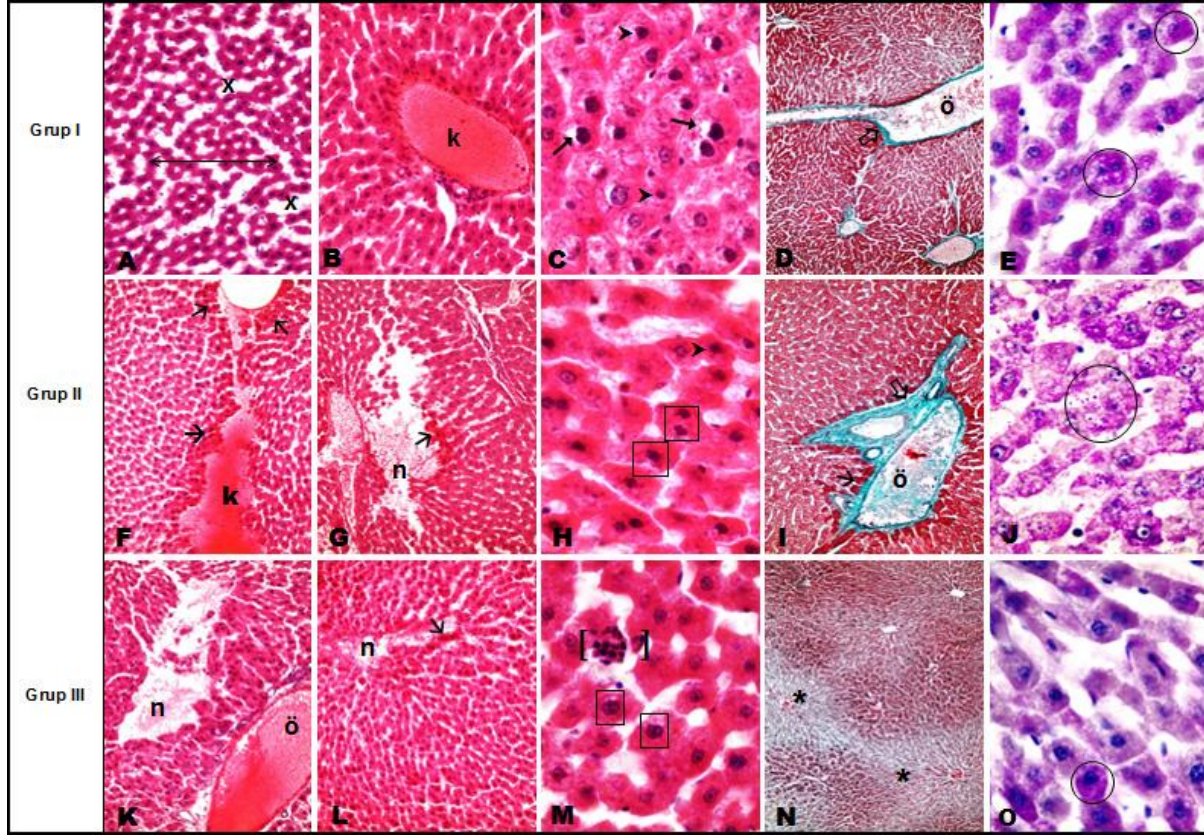
DIBP uygulanan deney gruplarında doz artışına paralel olarak çarpıcı değişimler kaydedilmiştir. Sinüzoidlerde genişleme ve buna bağlı olarak hepatosit kordonlaşmasında bozulma genel bir bulgudur (Şekil 2A,F,K). Birçok hepatik arter ve merkezi/portal vende ödem ve konjesyon saptanmıştır (Şekil 2B,D,F,I, K). Parankimanın pek çok yerinde, özellikle damarlara yakın bölgelerde fokal hepatoselüler nekroz izlenmiştir (Şekil 2G,K,L). Nekrotik alanlara yakın bulunan hepatositlerde artmış sitoplazmik eozinofili dikkati çekmiştir (Şekil 2F,G,L). Özellikle perinüklear alanda olmak üzere hepatosit sitoplazmasında vakuolizasyon (Şekil 2C) görülmüş, çok sayıda hepatositte nükleus şekillerinin bozulduğu, boyanma özelliklerinin değiştiği ve nükleusların piknotikleştiği tespit edilmiştir (Şekil 2C,H,M). Bağ dokusu için yapılan Gomori trikrom boyamada damar çevrelerindeki hepatositlerde boyanma farklılıkları (Şekil 2N), vena centralis ve portal alan etrafında bağ dokusunda artış gözlenmiştir (Şekil 2D,I). Hepatositlerin glikojen depolama fonksiyonunu belirlemek için yapılan PAS

Diisobutyl Phthalate' ın (DIBP) Sıçan Karaciğeri Üzerine

boyamada da çoğu hepatositte depolanan glikojen miktarının oldukça azaldığı görülmüştür (Şekil 2E,J,O). Deney gruplarında elde edilen histopatolojik bulgular Tablo1 de belirtilmiştir.



Şekil 1. Karaciğer kontrol kesiti; vena centralis (vc) etrafında ışımsal dizilim gösteren hepatosit kordonları (h), kordonlar arasında yer alan sinüzoidler (s), sinüzoid duvarında endotel (→) ve Kupffer hücreleri (▶), çift nükleuslu hepatositler (□), portal alan (pa) ve yoğun glikojen depolayan hepatositler (○). **Boyama**; A,B; HE, C,D; Gomori trikrom, **Büyütme**; E; PAS. A-B-E; x40 - C,D; x20.



Şekil 2. Deneme grubu karaciğerinde sinuzoidlerde genişleme (x), hepatosit kordonlaşmasında bozulma (↔), hepatis arter ile merkezi vende ödem (ö) ve konjesyon (k), fokal hepatoselüler nekroz (n), mononükleer hücre infiltrasyonu ([]), hepatositlerde artmış sitoplazmik eozinofili (→), hepatositlerde boyanma farklılıkları (*), hepatositlerde vakuolizasyon (↔), hepatosit nükleuslarında şekil bozukluğu (□), piknotik hepatosit nükleusları (▶), vena centralis ve portal alan etrafında bağ dokusunda artış (⇒), az miktarda ve partiküler tarzda glikojen depolayan hepatositler (O). **Boyama;** A,B,C,F,G,H,K,L,M; H&E-D,I,N; Gomori trikrom - E,J,O; PAS. **Büyütme;** D,N; x10 - G,I,K,L; x20 - A,B; x40-C,E,H,J,M,O; x100

Diisobutyl Phthalate' ın (DIBP) Sıçan Karaciğeri Üzerine

Tablo 1. DIBP uygulanan gruplarda gözlenen histopatolojik parametreler ve görülme sıklığı, (-; herhangi bir etki görülmemeyen, +; az derecede görülen, ++; orta derecede görülen, +++; sık derecede görülen, ++++; çok sık derecede görülen).

Hematoksilen - Eozin Boyamasındaki Bulgular	Kontrol Grubu	0,25 ml DIBP	0,5 ml DIBP	1 ml DIBP
Sinüzoidlerde genişleme	-	+	++	+++
Hepatosit kordonlaşmasında bozulma	-	+	++	+++
Konjesyon	-	++	+++	++++
Ödem	-	+	++	+++
Nekroz	-	++	+++	++++
Lenfosit infiltrasyonu	-	+	++	++
Hepatosit nükleuslarındaki şekil değişiklikleri ve heterokromatikleşme	-	++	+++	++++
Hepatosit sitoplazmasındaki vakuolizasyonlar	-	+	++	+++
Gomori Trikrom Boyamasındaki Bulgular				
Hepatik lobül etrafında bağ dokusu artışı	-	-	-	-
Vena centralis ve portal alanlar etrafındaki bağ dokusu artışı	-	+	++	++++
Hepatositlerin boyanma farklılıkları	-	+	++	++++
PAS Reaksiyonundaki Bulgular				
Hepatositlerin glikojen depolama miktarındaki azalma	-	+	++	+++

4. TARTIŞMA

Fitalatların, üreme sağlığı ve gelişimi üzerinde etkileri gösterilmiş olan endokrin sistem bozucuları oldukları bilinmektedir. Bazı araştırmacılar da fitalatların kemirgenlerde birçok hepatik değişikliğe yol açtığını ve karaciğerin fitalatlar için hedef organ olduğunu belirtmektedir [14-16].

Çalışmamızda gözlenen merkezi vendeki damar yapılarında bozulmaya bağlı olarak gerçekleşen sinüzoidlerde genişleme ve hepatositlerin ışınal düzenlerinin bozulmasını Üçüncü ve diğerleri (2010) [17] balıklarda Dioktil adipat (DOA) (plastifiyan) uygulamasında merkezi venlerde separasyon oluşumu, sinüzoidlerde izlenen kanlanmalar ve sonucunda doku

bütünlüğünün bozulması olarak vurgulamaktadır. Birçok araştırmacı balıkların sinüzoidlerinde izlenen kanlanma olgusu hepatosellüler hasarın göstergesi olarak kabul etmektedirler [18-20].

Morfolojik olarak hem sıçanlarda hem de farelerde, sentro lobüler bölge başta olmak üzere, karaciğer lobülünün tüm bölgelerini etkileyen değişimler hipertrofi ya da hiperplazi nedeniyle ortaya çıkmaktadır [21]. Karaciğer ağırlığındaki artışın kaynağı olan hiperplazi ve hipertrofi; enflamasyon, fibrozis metabolizma ürünlerinin atılamaması, neoplazi gibi çeşitli nedenlerden kaynaklanabilir [22,23]. Tipik olarak bu değişiklikler enflamasyon, nekroz ve dejenerasyon gibi olumsuz değişiklikler meydana getirir [24].

Hall ve diğerlerinin (2012) [25] çalışmasında, H&E boyalı kesitlerde hepatosellüler hipertrofiyle karşılaştıkları yerlerde, hepatositlerin sitoplazmasının eozinofilikleştiği ve bu eozinofilik sitoplazmalı hepatositlerin nükleuslarında şekil değişiklikleri olduğu gözlenmiştir. Hepatosit sitoplazmasındaki bu karakteristik eozinofilik oluşuma, fenobarbiton ve diğer mikrozomal ilaç indükleyicilerin granülsüz endoplazmik retikulum çoğalması ile açıklamışlardır. Ayrıca hepatosit sitoplazmasının boyanma özelliğinin hücre hipertrofisine, sitoplazmik hacim artışına ve organel mekanizmasına bağlı olarak değiştiğini ifade etmişlerdir. Bunun yanısıra klorofibrat gibi ksenobiyotiklerin farklı mekanizmalar yoluyla hepatosit hipertrofisine neden olduğuna dikkat çekmişlerdir. Hepatositlerin kesitlerde yoğun eozinofilik granüler sitoplazmalı olarak görülmesinin sebebini herbisitler ve ksenobiyotik gibi bazı kimyasalların peroksizom çoğalmasını aktive eden reseptör alfa'yı (PPAR α) uyararak peroksizom çoğalmasına neden olduğu şeklinde açıklamışlardır.

Çalışmamızda uygulanan DIBP dozuna bağlı olarak hepatositlerin yoğun asidofilik sitoplazmaya sahip olmaları, araştırmacıların belirttiği gibi, hücresel boyuttaki değişimlere ve granülsüz endoplazmik retikulum artışına bağlı olduğu söylenebilir. Ayrıca hepatositlerdeki yoğun asidofilikleşmenin özellikle nekrotik alanların etrafındaki yakın hepatositlerde gözlenmesi DIBP toksisitesi sonucu hücrelerin nekroz yolu ile ölüme gittiklerinin göstergesi olarak kabul edilebilir.

Gastrointestinal sisteme bağlı bez olarak karaciğer çok önemli metabolik işlevlerin ve zehirsizleştirme süreçlerinin merkezidir [26,27]. Araştırmacılar çalışmalarda izlenen nekrotik oluşumların karaciğerde toksisiteye bağlı olarak meydana gelen tipik değişimler olduğunu söylemektedirler [17,28]. Hücresel membran bütünlüğünün bozulmasının enzimatik inhibisyon sonucu olduğu ve bunun karaciğerin protein-karbonhidrat sentezinde bozulmalara neden

Diisobutyl Phthalate' ın (DIBP) Sıçan Karaciğeri Üzerine

olduğu bildirilmektedir [29]. Bunun kesin olarak söylenebilmesi için her ne kadar hücre detayını daha net ortaya çıkaracak elektron mikroskop düzeyinde yapılacak incelemelere gereksinim olsa da çalışmamızda, deney guruplarının PAS reaksiyonu uygulanmış kesitlerinde, gözlenen hepatositlerde glikojen depolanmasındaki azalma karbonhidrat metabolizmasında bozulma olduğunu göstermektedir.

Shehata ve diğerlerinin (2013) [30] DEHP uygulanan grupta TOTM uygulanan gruba göre fokal hepatoselüler değişiklikler, lobülasyonda bozulma, sinüzoidlerde genişleme ve portal venlerde tıkanıklık gibi patolojik bulguları daha fazla gözlediklerinden, TOTM'nin alternatif bir plastikleştirici olarak kullanılabilirliğini savunmuşlardır. Çalışmamızda kullandığımız DIBP'ın oluşturduğu histopatolojik değişimler DEHP uygulama sonuçlarıyla benzerlik göstermiştir.

Deney guruplarımız kontrol grubu ile karşılaştırıldığında verilen DIBP dozlarındaki artışa bağlı olarak sinüzoidlerde genişleme ve buna bağlı olarak hepatosit kordonlaşma yapısının bozulması tüm guruplarda net bir biçimde görülmektedir. 0,25 ml DIBP verilen grubun karaciğer kesitlerine bakıldığında değişimlerin hafif olarak başladığını söyleyebilirken bu bulguların 0,5 ml ve 1 ml DIBP verilen guruplarda giderek artan oranlarda olduğunu görmekteyiz. Örneğin; 0,25 ml lik grupta damarlarda ödem ve konjesyon bazı belirgin bölgelerde görülürken, 0,5 ml lik grupta buna oranla daha sık, 1 ml lik grupta ise hemen hemen her kesitin damarlarında bu bulgulara rastlanmaktadır. Diğer bir örnek olarak nekroz bulgusu 0,25 ml lik DIBP uygulanan grubun kesitlerinde yer yer hepatoselüler nekrotik alanlar görülürken, artan doz guruplarında daha geniş ve lobüler düzeyde nekrotik alanlar tespit edilmiştir. Gomori trikrom boyası ile boyanan kesitlerde, kontrol grubuna göre 0,25 ml lik deney grubu kesitlerinde damarlardaki bağ dokusu artışı çok belirgin değilken, 1 ml lik gruba baktığımızda vena centralis ve portal alanlarda belirgin bağ dokusu artışı mevcuttur. Buna karşılık tüm deney gurupları kontrol guruplarıyla karşılaştırıldığında hepatik lobülün etrafındaki bağ dokusu artışını kesin biçimde görememekteyiz. Vena centralis ve portal alanlarda gözlenen bağ dokusu (kollajen lif) artışı; dokunun DIBP'nin olumsuz etkilerine karşı damar yapılarını korumak ve mekanik desteklik sağlamak amacıyla böyle bir yapısal savunma mekanizması geliştirmiş olabileceğini düşündürmektedir. Tüm deney guruplarında, Gomori trikrom ile boyanan kesitlerde, özellikle damarlara yakın hepatositlerde gözlenen boyanma farklılıklarının

hücre organel yapısının bozulmasından ve sitoplazmik içeriğin değişmesinden kaynaklandığını söylemek mümkündür.

Sonuç olarak belirlenen bu bulgular, DIBP'nin sıçan karaciğeri için hepatoksik bir madde olduğunu karaciğer dokusunda ciddi ve geri dönüşümsüz histopatolojik değişimlere yol açtığını göstermektedir. Ekonomiye ve özellikle insan sağlığına olan etkileri göz önüne alındığında, alınacak önlemlerin belirlenmesine katkı sağlaması bakımından bu çalışmanın sonuçları büyük önem taşımaktadır. Bu nedenle DIBP'nin kullanım alanlarında dikkatli olunması gerektiği ve mümkünse zararlı olmayan ya da daha az zararlı alternatif bir fitalatın kullanılmasını önermekteyiz.

Teşekkür: Çalışmayı, ADÜ/FEF-14018 nolu proje kapsamında finansal olarak destekleyen Adnan Menderes Üniversitesi, Bilimsel Araştırma Projeleri birimine teşekkür ederiz.

KAYNAKLAR

- [1] Ahabab M: Di-N-Hekzil fitalat ve disiklohekzil fitalat'a prenatal maruziyetin erkek sıçanların üreme sisteminin gelişimi üzerindeki etkilerinin incelenmesi. Hacettepe Üniversitesi, Fen Bilm Enst., Doktora Tezi, Ankara, 2010.
- [2] Solomon GM, Schettler T: Environment and health: Endocrine disruption and potential human health implications. Canadian Medical Association Journal, 1116, 1467-74, 2000.
- [3] Lee MM: Endocrine disrupters. Pediatric Endocrinology, 109, 18-37, 2007.
- [4] Saito I, Onuki A, Seto H: Determination of organic phosphate triesters in indoor and outdoor air. J Aerosol Research, 16, 209-216, 2001.
- [5] Shen H: Simultaneous screening and determination eight phthalates in plastic products for food use by sonication-assisted extraction/GC-MS methods. Talanta, 66: 734-739, 2005.
- [6] Castle L, Mayo A, Gilbert J: Migration of plasticizers from printing inks into foods. Food Add Contam, 6, 437-443, 1989.
- [7] Okubo T, Suzuki T, Yokoyama Y, Kano K, Kano I: Estimation of estrogenic and anti-estrogenic activities of some phthalate diesters and monoesters by MCF-7 cell proliferation assay in Vitro. Biol Pharm Bull, 26, 1219-1224, 2003.
- [8] Environmental Protection Agency (EPA): Phthalates Action Plan, 2009. [http://www.epa.gov/oppt/existingchemicals/pubs/phthalates_ap_2009_1230_final.pdf], Erişim Tarihi: 02.30.2011.

Diisobutyl Phthalate'ın (DIBP) Sıçan Karaciğeri Üzerine

- [9] European Chemicals Agency (ECHA): Annex IV Dossier, proposal for identification of a substance as SVHC/CMR (substances of very high concern/carcinogenic, mutagenic, or toxic to reproduction).
[http://echa.europa.eu/doc/consultations/svhc/svhc_axvrep_germany_cmr_diisobutylphthalate_20090831.pdf], 2009. Erişim Tarihi: 02.30.2011.
- [10] European Commission: Diisobutyl phthalate. IUCLID Dataset. European Commission. European Chemicals Bureau, 2000. Substance ID: 84-69-5.
[<http://ecb.jrc.ec.europa.eu/iuclid-datasheet/84695.pdf>], Erişim Tarihi: 04.13.2012.
- [11] European Commission: Diisobutyl phthalate. Commission of the European Communities. European Chemicals Bureau, 2004. ECBI/116/04.
[http://ecb.jrc.it/classlab/agenda/_ag_Health_0305.htm], Erişim Tarihi: 01.19.2012.
- [12] Organization for Economic Cooperation and Development (OECD): Guidelines for Testing of Chemicals No: 407. Repeated Dose 28-day oral toxicity study in rodents. Paris, France, 1995.
- [13] Bancroft JD, Cook HC: Manual of histological techniques and their diagnostic application. Churchill Livingstone, pp 457, London, 1994.
- [14] Mann AH, Price SC, Mitchel FE, Grasso P, Hinton RH, Bridges JW: Comparison of the short-term effects of di(2-ethylhexyl) phthalate, di(n-hexyl) phthalate, and di(n-octyl) phthalate in rats. *Toxicol Appl Pharmacol*, 77, 116-132, 1985.
- [15] David RM, Moore MR, Finney DC, Guest D: Chronic toxicity of di (2-ethylhexyl) phthalate in rats. *Toxicol Sci*, 55, 433-443, 2000.
- [16] Rusyn I, Peters JM, Cunningham ML: Modes of action and species-specific effects of di (2-ethylhexyl) phthalate in the liver. *Crit Rev Toxicol*, 36, 459-479, 2006.
- [17] Üçüncü Sİ, Ergen G, Önen Ö, Tekkan B, Üreten M, Boz E, Seferoğlu K, Gökçe B: Dioktil Adipat'ın (DOA) *Labidochromis caeruleus* Fryer, 1956 (Cichlidae, Teleostei) Karaciğer Histolojisi Üzerindeki Etkileri. *Kafkas Univ. Vet. Fak. Derg*, 16 (Suppl-B): 197-203, 2010.
- [18] Peters N, Köhler A, Kranz H: Liver pathology in fishes from the lower Elbe as a consequence of pollution. *Dis Aquat Org.*, 2, 87-97, 1987.
- [19] Kranz H, Dethlefsen V: Liver anomalies in dab *Limanda limanda* from the southern North Sea with special consideration given to neoplastic lesions. *Dis Aquat Org.*, 9, 171-185, 1990.
- [20] Romano S., Donatti L., Freitas M., Teixeira J., Kusma J. 2006. Blood parameter analysis and morphological alterations as biomarkers on health of *Hoplias malabaricus* and *Geophagus brasiliensis*. *Brazil Arch. Biol. Technol.*, 49, 441-448, 2006.
- [21] Hoivik DJ, Qualls CWJr, Mirabile RC, Cariello NF, Kimbrough CL, Colton HM, Anderson SP, Santostefano MJ, Morgan RJ, Dahl RR, Brown AR, Zhao Z, Mudd PNJr, Oliver WBJr, Brown HR, Miller RT: Fibrates induce hepatic peroxisome and mitochondrial proliferation without overt evidence for cellular proliferation and oxidative stress in cynomolgus monkeys. *Carcinogenesis*, 25, 1757-69, 2004.
- [22] Carthew P, Nolan BM, Edwards RE, Smith LL: The role of cell death and cell proliferation in the promotion of rat liver tumours by tamoxifen. *Cancer Lett*, 10, 163-69, 1996.

- [23] Greaves P: Liver and pancreas. In *Histopathology of Preclinical Toxicity Studies*, 3rd ed., pp. 457-504. Elsevier, London, UK, 2007.
- [24] Maronpot RR, Yoshizawa K, Nyska A, Harada T, Flake G, Mueller G, Singh B, Ward JM: Hepatic enzyme induction: *Histopathology*. *Toxicol Pathol*, 38, 776-95, 2010.
- [25] Hall AP, Elcombe CR, Foster JR, Harada T, Kaufmann W, Knippel A, Küttler K, Malarkey DE, Maronpot RR, Nishikawa A, Nolte T, Schulte A, Strauss V, York MJ: Liver hypertrophy: A Review of adaptive (Adverse and non-adverse) changes conclusions from the 3rd international ESTP expert work shop. *Toxicologic Pathology*, 40, 971-994, 2012.
- [26] Tamaru CS, Cole B, Bairley R, Brown C, Ako H: A manual for commercial production of Swordtail, *Xiphophorus Helligeri*. University Of Hawaii Sea Grant Extension Service, School of Ocean Earth Science and Technology, CTSA Publication Number 128, pp; 1-38. Honolulu, Hawaii, 2001.
- [27] Weisman JL, Miller DL: Lipoid Liver Disease and Steatitis in Captive Sapphire Damsel *Pomacentrus Pavo*. *Acta Lchtiyol Piscatoria*, 36 (2): 99-104, 2006.
- [28] Arellano JM, Storch V, Sarasquete C: Histological changes and copper accumulation in liver and gills of the Senegales Sole, *Solea Senegalensis*. *Ecotoxicol Environ Saf*, 44, 62-72, 1999.
- [29] Manahan SE. *Water pollution environment chermistry*. First Ed., Lewis Publishers. London, 1991.
- [30] Shehata AS, Abd El-Rehim Mohamed Z, Abd El-Haleem MR, Samak AM: Effects of exposure to plasticizers di-(2-Ethylhexyl) phthalate and trioctyltrimellitate on the histological structure of adult male albino rats' Liver. *Clinical Toxicology*, 3, 4, 2013.