

Dioktil Adipat'ın (DOA) *Labidochromis caeruleus* Fryer, 1956 (Cichlidae, Teleostei) Karaciğer Histolojisi Üzerindeki Etkileri ^[1]

Sema İŞİSAĞ ÜÇÜNCÜ * Gürsel ERGEN * Özlem ÖNEN ** ✍ Burcu KOLBAŞI TEKKAN *
Melih ÜRETEN * Emrah BOZ * Kenan SEFEROĞLU * Burak GÖKÇE *

[1] Bu çalışma Ege Üniversitesi Eczacılık Fakültesi tarafından hazırlanan Deney Hayvanları İçin Etik Kurul Kararlarına göre ve Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Hayvan Etik Kurulu 2008-49 Sayılı Raporu uyarınca yürütülmüştür

* Ege Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Zooloji Anabilim Dalı, TR-35100 Bornova, İzmir - TÜRKİYE

** Kafkas Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Zooloji Anabilim Dalı, TR-36000 Kars - TÜRKİYE

Makale Kodu (Article Code): KVFD-2009-1132

Özet

Polimerizasyon süreçlerinde en çok kullanılan plastikleştiricilerden biri olmasına rağmen, dioktil adipat'ın (DOA, C₂₂H₄₂O₄) ekotoksikolojik etkileri çok iyi bilinmemektedir. Bu noktadan hareketle sunulan araştırmanın amacı, 30 gün süreyle 0.75 ppm DOA uygulamasına maruz bırakılan *Labidochromis caeruleus* (sarı prenses) karaciğerlerindeki histopatolojik değişimlere ilişkin ışık mikroskobu bulgularının değerlendirilmesine yöneliktir. Kontrol gruplarıyla karşılaştırıldığında, DOA'ya maruz kalan grupta karaciğerde oluşan en belirgin değişimler çarpıcı bir steatoz (yağlanma), bazı fibröz yapılaşmalar ve genişleyen nekrotik alanlar olarak not edilmiş, ayrıca sinüzoidlerde ve merkezi vende dilatasyon, poikilositoz ve kanama gözlenmiştir. Çalışmada sunulan veriler, DOA'nın, en azından *Labidochromis caeruleus* için hepatotoksik olduğunu göstermektedir.

Anahtar sözcükler: Dioktil adipat, DOA, Karaciğer, Histopatoloji, *Labidochromis caeruleus*

The Effects of Dioctyl Adipate (DOA) on The Liver Histology of *Labidochromis caeruleus* Fryer, 1956 (Cichlidae, Teleostei)

Summary

Although dioctyl adipate (DOA, C₂₂H₄₂O₄) is one of the most common plasticizers that are used for polymerization, the ecotoxicological effects of it is not well known. From this point of view, aim of this preliminary investigation was to analyze the histopathological changes in the liver of *Labidochromis caeruleus* (yellow princess), exposed to 0.75 ppm DOA for 30 days. When compared to controls, the most prominent changes occurred in the DOA exposed group were noted as a significant steatosis (fat depositions), fibrosis and expanding necrotic areas. The dilatation of sinusoids and central veins, poikilocytosis, and hemorrhage were also observed. The data presented in this study shows that, DOA is a hepatotoxic chemical at least for *Labidochromis caeruleus*.

Keywords: Dioctyl adipate, DOA, Liver, Histopathology, *Labidochromis caeruleus*

GİRİŞ

İnşaat sektörü başta olmak kaydıyla ambalaj, kablo ve boru üretimi, kozmetik ve sağlık sektörlerinde, ayrıca kompozit yakıtlarda yaygın kullanım alanına sahip bir polimer olan polivinil klorürün (PVC) üretiminde, ikincil plastikleştirici olarak en çok tercih edilen bağlayıcı maddelerden biri, fitalat grubuna giren dioktil adipattır (DOA).

Fitalatlar kararlı bileşiklerdir, ısı ve sürtünmeyle serbest hale geçerek canlı vücuduna girebilirler. Bu maddelerin insan ve çevre sağlığı üzerindeki etkileriyle ilgili veriler sınırlıdır. *Daphnia magna* üzerinde yapılan araştırmalarda akut ve kronik toksisite değerleri ortaya konmuş olmasına karşın, DOA'nın çevreye verebileceği zarar konu-

✍ **İletişim (Correspondence)**

☎ +90 232 3111010/2420

✉ ozlem.onen@ege.edu.tr, ozlem.onen@hotmail.com

sunda, algler ve balıklar için akut toksisiteden bahsedilemeyeceği ve güvenli bir kullanım alanına sahip olduğu şeklinde, gerçekten iyimser denilebilecek bir yaklaşım sergilenmektedir ^{1,2}. Söz konusu maddenin metanol, dietil eter, n-oktanol ve asetonla çözünürken suda çözünmediğini öne süren ticari raporlara karşın, US EPA kayıtlarında suda 0.78 mg/L gibi oldukça düşük bir çözünürlük değeri verilmektedir, Log $K_{ow} \geq 6.11$ olarak verilen oktanol/su bölünme katsayısı, toprakta mobilizasyonun olmayışı ve balıklarda 27 olarak bildirilen biyokonsantrasyon faktörü de bu verilere eklendiğinde, aynı kaynaklar DOA'nın çevreye ancak çok az hasar verebileceğini öne sürmekte ve hatta biyokonsantrasyon faktörü uzantısında balıklar açısından akut toksik olmak bir yana, herhangi bir çevresel öneminin bulunmayacağı, ancak adipatı metabolize edemeyen sucul organizmalar için önemli olabileceği not etmektedirler. US EPA raporlarına göre sıçanlar için verilen LD₅₀ değeri 5600-45000 mg/kg olarak, yüzey sularında bulunabilecek değer olan 0.5 µg/L'nin çok üzerindedir. Genotoksik olmamakla birlikte memelilerde fertilité, üreme ve gelişimde bazı olumsuz etkiler gösterebileceği kaydedilen DOA, IARC ölçütlerinde Grup 3 içerisinde, yani insanlar için kanserojenik ve/veya mutajenik değildir. Fakat kullanımı sırasında solunmasından, gözle ve deriyle temasından kaçınılması gerektiği yolunda ve ayrıca kronik maruziyette kilo kaybına, kemik yoğunluğunda azalmaya, karaciğer ve testis hasarları oluşturabileceğine dair uyarılar vardır ².

Sunulan araştırma, sucul toksisite çalışmaları için uygun bir kemikli balık türü olarak belirlenen sarı prenses (*Labidochromis caeruleus*) örnekleri üzerinden DOA'nın, dönüşüm ve metabolizma bağlamında zehirsizleştirme mekanizmalarının en önemli organı olan karaciğer histolojisindeki olası etkilerinin, histolojik yöntemlerle belirlenmesi hedeflenerek gerçekleştirilmiştir.

MATERYAL ve METOT

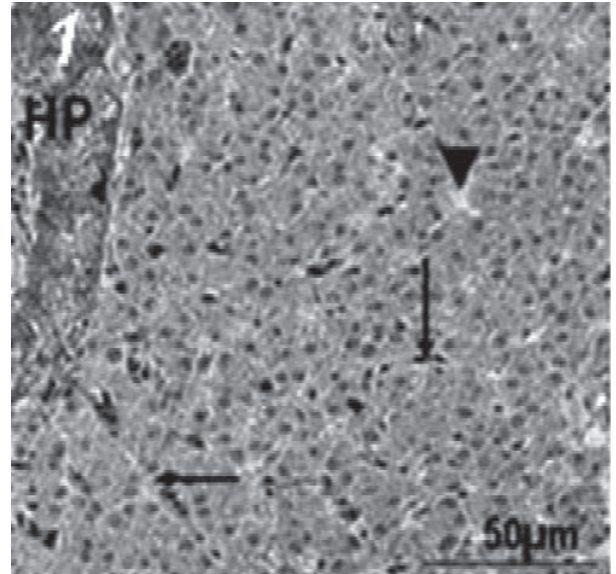
Araştırmamız Ege Üniversitesi Eczacılık Fakültesi tarafından hazırlanan Deney Hayvanları İçin Etik Kurul Kararlarına göre ve Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Hayvan Etik Kurulu 2008-49 Sayılı Raporu uyarınca (EÜHADYEK Sertifika No: 000018) yürütülmüştür. Dişi bireylerde strese bağlı oluşabilecek hormonal değişikliklerden kaçınılması amacıyla çalışmada sadece erkek balık örnekleri kullanılmıştır. Ticari akvaryumculardan sağlanan onbeş adet erkek *L. caeruleus* örneği (ağırlık 3 ± 0.5 gr; total boy 8 ± 2 cm) dört hafta süreyle 20 L hacmindeki cam akvaryumlarda, $25 \pm 1^\circ\text{C}$ su sıcaklığında, 7.7-8.5 pH'da ve doğal fotoperiyotta tutulduktan sonra beşer örnekten oluşan iki kontrol ve bir deneme grubuna ayrılmışlardır. Balıklar iki günde bir ticari yemlerle (Sera-San) beslenmişlerdir. DOA örneği (CAS Number 103-23-1) Plastifay AŞ (İstanbul) tarafından sağlanmıştır.

İlk gruba negatif kontrol olarak hiçbir kimyasal verilmemiştir. İkinci kontrol grubunun bulunduğu akvaryuma ise DOA'nın çözülmesi amacıyla, bu tip çalışmalarda en sık kullanılan çözücü olarak aseton eklenip, bu grup aseton kontrol grubu olarak tanımlanmıştır. Deneme grubunun bulunduğu akvaryuma 0.75 ppm DOA aseton içinde çözülerek bir defada uygulanmıştır. Otuz günlük deneme süresi bittiğinde MS222 ile anesteziyen sonra kontrol ve deneme gruplarından alınan karaciğer dokuları Bouin sıvısında tesbit edilip parafine gömülmüştür. Baird-Tatlock marka mikrotomla alınan 5-7 µm kalınlığındaki kesitler hematoxilen-eozin (H&E) ve Mallory Trikrom (MT) boyama yöntemleriyle boyanıp, Olympus CX 51 ışık mikroskopunda incelenerek fotoğrafları çekilmiştir.

BULGULAR

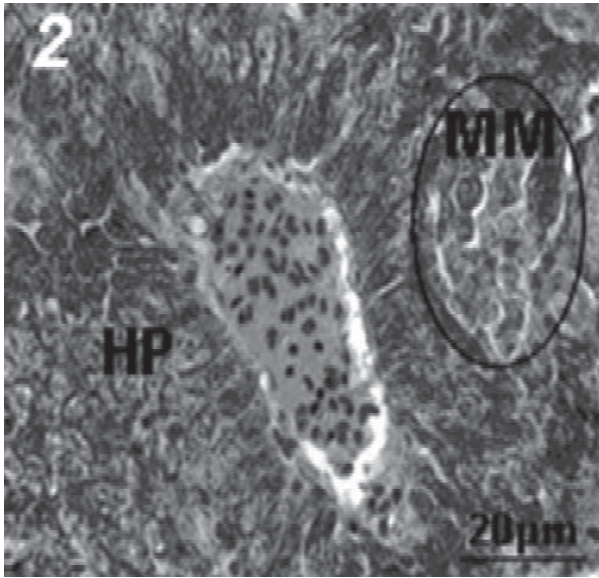
Deneme ve kontrol gruplarında hiçbir ölüm vakası olmamış ve örneklerde herhangi bir davranış değişimi gözlenmemiştir. Negatif kontrol grubundaki gözlemlere göre, merkezi ven etrafında lobüler bir düzenleme izlenmeyen *L. caeruleus* karaciğer parankimasında hepatopankreas yapısını oluşturan ekzokrin pankreas asinusları (*Şekil 1*) çevresinde daha sık olmak kaydıyla melanomakrofaj yığınları yer alır (*Şekil 2*).

Parankimanın esas hücreleri olan çokgen şekilli ve iri nukleuslu hepatositler (*Şekil 3*) oldukça düzgün kordonlar oluştururlar, aralarında çok ince sinüzoidler ve



Şekil 1. Negatif kontrol grubunda karaciğer parankimasında hepatopankreas (HP), merkezi ven (MV) ve sinüzoidler (ok), çok hafif steatoz (ok başı), H&E

Fig 1. Hepatopancreas (HP), central vein (MV), sinusoids (arrow) and a slight steatosis (arrowhead) in the liver parenchyma of negative control group, H&E

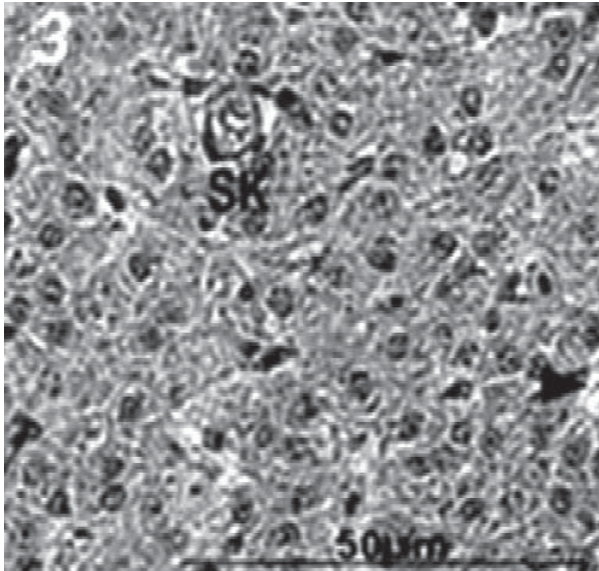


Şekil 2. Negatif kontrol grubunda hepatopankreas yakınında melanomakrofaj merkezi (MM, daire içerisinde), MT

Fig 2. Melanomacrophage center (MM, encircled) nearby the hepatopancreas (HP) of negative control group, MT

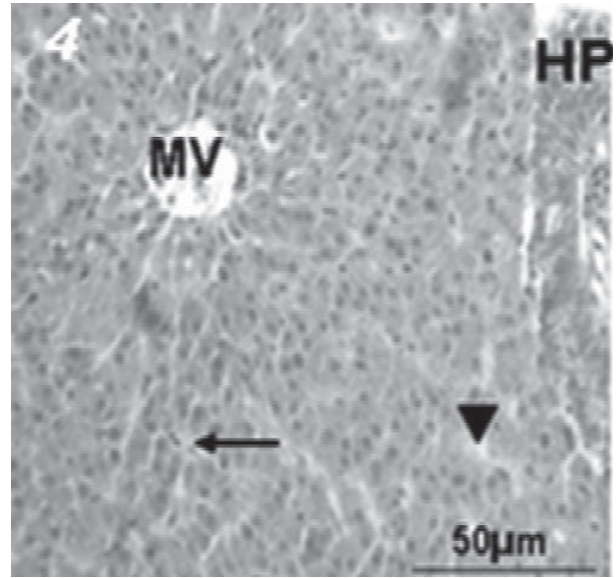
safra kanalları bulunur. Örneklerde ayrıca az sayıda vakuolle karakterize edilen çok hafif bir steatozis not edilmiştir.

Karaciğer parankima yapıları kontrol grubu örneklerine çok büyük oranda benzerlik gösteren aseton kontrol grubu örneklerinde (Şekil 4-6) belirgin bir histopatoloji saptanmamıştır.



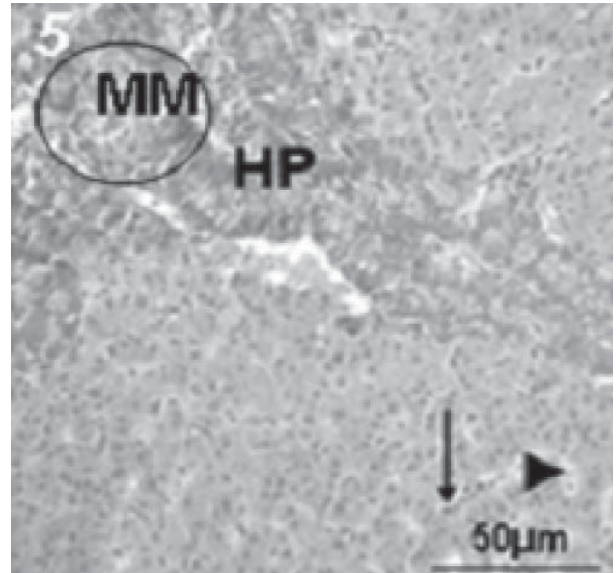
Şekil 3. Negatif kontrol grubunda hepatositlerden ayrıntı, safra kanalı (SK) ve çok hafif steatozis, H&E

Fig 3. Details of hepatocytes, bile duct (SK) and also a slight steatosis (arrowhead) at negative control group. H&E



Şekil 4. Aseton kontrol grubu karaciğer parankimasında merkezi ven (MV), hepatopankreas (HP), sinüzoidler (ok) ve hafif steatozis (ok başı), H&E

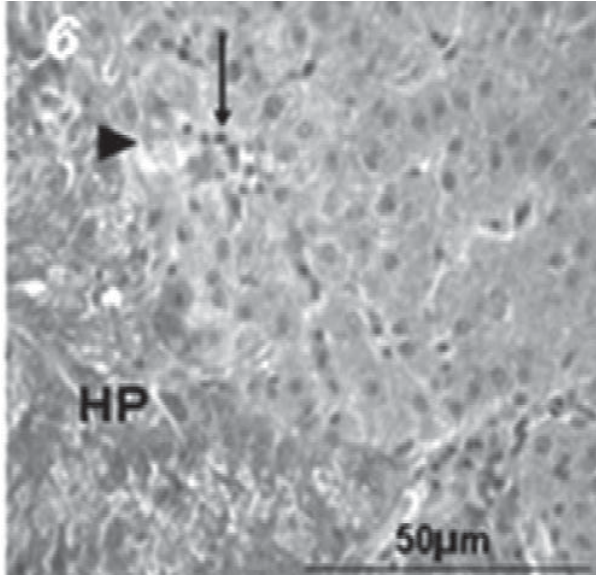
Fig 4. Central vein (MV), hepatopancreas (HP), sinusoids (arrow) and a slight steatosis (arrowhead) in the liver parenchyma of acetone control group, H&E



Şekil 5. Aseton kontrol grubunda hepatopankreastan ayrıntı, melanomakrofaj merkezi (daire içerisinde, MM) ve sinüzoidler (ok), H&E

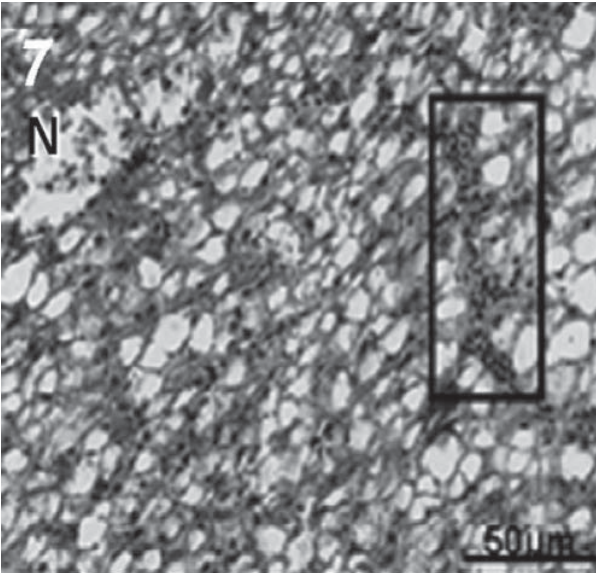
Fig 5. Details of hepatopancreas, melanomacrophage center (MM, encircled,) and sinusoids (arrow) at acetone control group. H&E

Merkezi ven, sinüzoidler, hepatopankreas ve melanomakrofaj yığılıları (Şekil 4, 5) önceki gruptaki gibi kolayca seçilebilmektedir. Hepatositlerde herhangi bir şekil bozukluğu yoktur ve bu grupta da çok hafif steatozis izlenmektedir (Şekil 4, 6).



Şekil 6. Aseton kontrol grubunda hepatosit ve sinüzoidlerden (ok) ayrıntı, ayrıca çok hafif steatoz (ok başı), MT

Fig 6. Details of hepatocyte, sinusoids (arrow) and also a slight steatosis (arrowhead) at acetone control group, MT

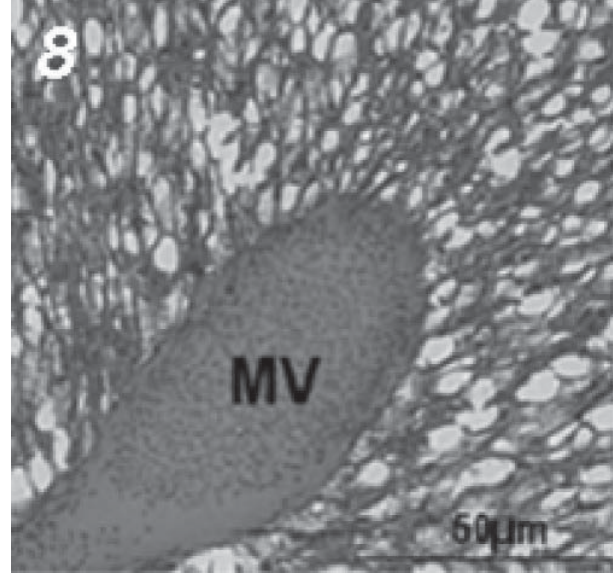


Şekil 7. DOA uygulanan grupta karaciğer parankimasında çok yaygın vakuoller halinde steatoz, nekrotik alan (N) ve sinüzoidlerde genişleme (dikdörtgen içerisinde), H&E

Fig 7. Steatosis as widened vacuoles, necrotic area (N) and dilatation of sinusoids (rectangled) in the liver parenchyma of DOA exposed group, H&E

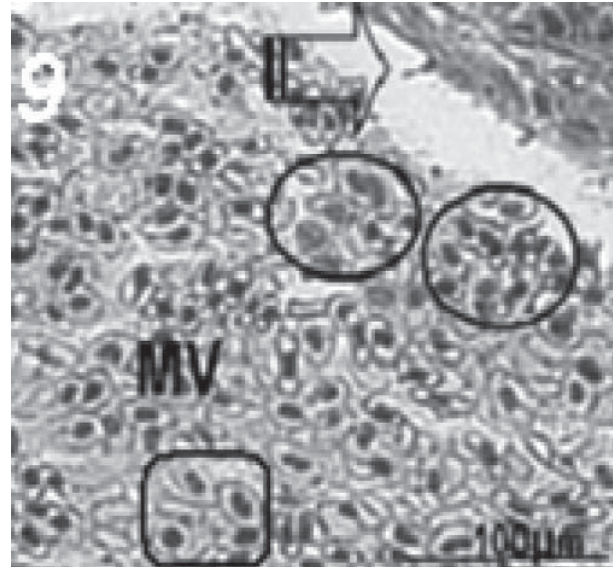
DOA uygulaması sonucunda karaciğer dokusunda göze hemen çarpan değişim, çok yaygın vakuoller oluşumlarla belirginleşen steatozdur, ayrıca çok geniş olmayan nekrotik alanlara rastlanmakta, sinüzoidlerdeki genişleme ve eritrosit miktarında artma dikkat çekmektedir (*Şekil 7*).

Çevresinde çok tipik steatozis gözlenen, çeperleri yer yer parankimadan ayrılmış gibi duran ve içerdiği kan hücrelerinin miktarı artan merkezi vendeki (*Şekil 8*) eritrositlerden bazılarında çeşitli şekil bozuklukları (poikilositosis) belirlenmiştir. Bazı eritrositlerin çok şişkin görü-



Şekil 8. DOA uygulanan grupta merkezi ven (MV) çevresinde çok çarpıcı steatoz, H&E

Fig 8. Striking steatosis all around of the central vein (MV) of DOA exposed group, H&E

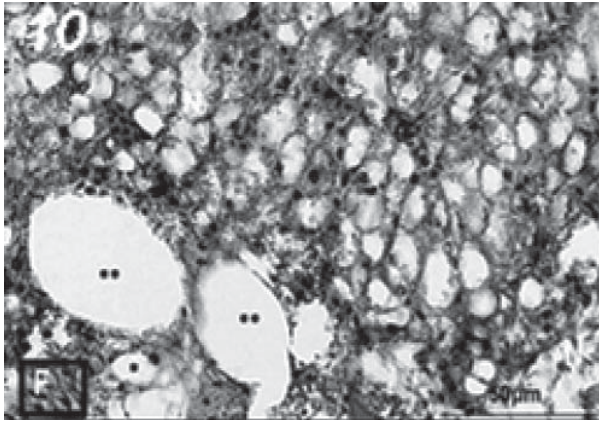


Şekil 9. DOA uygulanan grupta merkezi ven çeperinde ayrılmalar (ok); bazı eritrositlerde çok şişkin görünüm (yuvarlatılmış dikdörtgen içerisinde) ve şekli bozulmuş nükleuslar (daire içerisinde), H&E

Fig 9. Separations (arrow) in the wall of central vein, swollen appearance (rounded rectangle), and deformed nuclei (encircled) in some erythrocytes at DOA exposed group, H&E

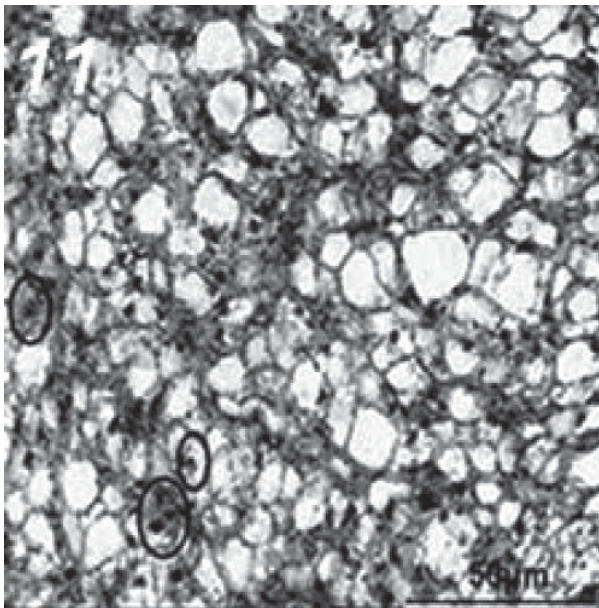
nümü yanında diğer bazılarında nukleus deformasyonları izlenmektedir (Şekil 9). Parankimada çok geniş boşluklar halinde izlenen steatozise ek olarak yer yer fibriller oluşumlara (fibrozis) rastlanmaktadır (Şekil 10).

Steatoz, hepatosit nukleuslarında şekil bozukluklarına sebep olacak kadar çarpıcıdır (Şekil 11), bu tip hepatositlerde hücre zarı bütünlüğü de bozulmuştur. Bütün bu değişimlere ayrıca doku genelinde çok yaygın nekroz eşlik etmektedir (Şekil 10, 11). Nekrotik alanların bazı preparatlarında izlenen çok genişlemiş durumu (Şekil 12), dokunun boş-



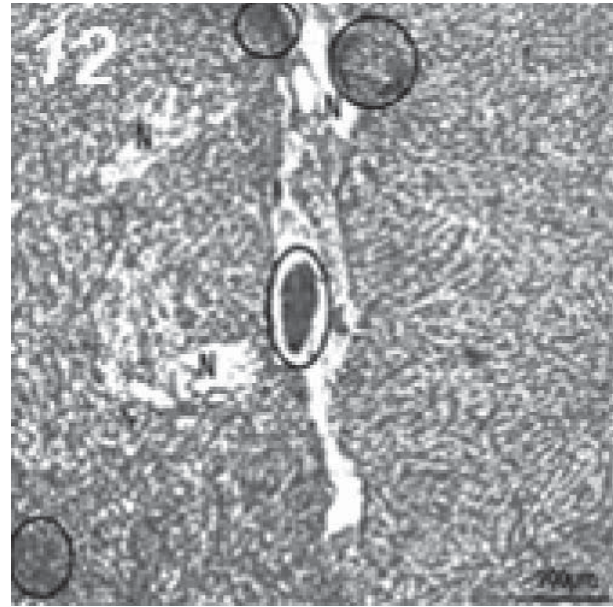
Şekil 10. DOA uygulanan grupta çok geniş vakuoller halinde steatoz (**) ve nekrotik alanlar ve (N) fibroz (dikdörtgen içerisinde, F), MT

Fig 10. Steatosis with large dilated vacuoles (**), necrotic areas (N) and fibrosis (F, rectangled) at DOA exposed group, MT



Şekil 11. DOA uygulanan grupta hepatosit nukleuslarında bozulmalar (daire içerisinde), MT

Fig 11. Deformations of hepatocyte nuclei (encircled) in DOA exposed group. MT



Şekil 12. DOA uygulanan grupta çok geniş nekrotik alanlarda (N) ve parankimada yaygın hemoraji (daire içerisinde), H&E

Fig 12. Widespread hemorrhage (encircled) in widely necrotic areas (N) and parenchyma in DOA exposed group, H&E

luklu bir görünüm almasına neden olarak karaciğerdeki deformasyonu çarpıcı biçimde ortaya koyan bir bulgudur.

Bu tip alanlarda kanama (hemoraji) odaklarında artışa rastlanmıştır, hemoraji ayrıca doku genelinde de izlenmektedir.

TARTIŞMA ve SONUÇ

Labidochromis caeruleus karaciğerinin genel yapısı diğer teleostlarla benzerlik göstermekteyse de, hepatositlerin merkezi ven etrafında düzgün kordonlar halinde izlenmesi birçok teleosta görülmez^{3,4}.

Metabolik işlevlerin ve detoksifikasyon süreçlerinin temel organı olarak karaciğer, açlık gibi stres oluşturan değişimlerden ve toksik maddelere maruziyetten en çok etkilenen organlardan biridir^{4,6}. Birçok toksik madde ve toksin⁷, karaciğerde biyolojik olarak daha az zehirli maddelere dönüştürülür ve safra kesesi yardımıyla dışarı atılır. Bazı toksik maddeler ise depolanır, hatta daha da zehirli kimyasallar haline getirilir⁸.

Omurgalıların en alt grubunu oluşturan teleostlarda bu organ sucul ekosistem kirliliğinin duyarlı bir göstergesi olarak pek çok araştırmaya konu olmaktadır. Çeşitli kimyasal maddelerin ve çevresel kirliliğin etkileri sonucunda balık karaciğerinde ortaya çıkan değişimler geniş ölçüde araştırılarak; birçok ağır metalin amonyum, klorin ve fenoller gibi endüstriyel atıkların ve petrol hidro-

karbonlarının, ayrıca çok sayıda organofosfatlı ve organoklorinli pestisitlerin etkileri değerlendirilmiştir ^{9,10}. Bu çerçevede karaciğerde izlenen başlıca histopatolojik bulgular hepatosit morfolojisinde değişimler ve vakuolizasyon artışı, nekroz, iskemi ve steatoz olarak belirtilmektedir ^{6,10}.

Özellikle aşırı endüstriyel atık boşaltımının sözkonusu olduğu sucul sistemlerde balık karaciğerleri üzerinde yapılan histopatolojik değerlendirmeler geniş ölçüde ilgi çekmektedir. Örneğin Almanya'da, özellikle ağır metal bağlamında çevresel kirliliğin yoğun görüldüğü Elbe Nehrinden toplanan *Platichthys flesus*, *Gymnocephalus cernua* ve *Osmerus eperlanus* türlerinde ¹¹ karaciğer histopatolojisi, hepatositomegali, sinüzoidlerde kanlanma, nekroz, fibroz, steatoz ve melanomakrofaj birikimleri olarak not edilmiştir. *Anguilla anguilla* üzerinde yapılan bir çalışmada ise ¹² olağanın çok üstünde vakuolizasyonla belirlenen, sudaki kontaminasyondan kaynaklanabileceği ve karaciğerde metabolizmanın bozulması sonucu fazla miktarda trigliserit birikimi sonucu gerçekleştiği bildirilmiştir. Bu görüş çerçevesinde steatozis, DOA uygulamasının metabolizasyonu ciddi ölçüde etkileyebileceği düşüncesini kuvvetlendirecek bir bulgu olarak değerlendirilmiştir.

Balıklarda kimyasal maddelerin etkisiyle oluşan karaciğer histopatolojisine yönelik olarak ülkemizde yayınlanmış birçok araştırma raporu vardır. Örneğin Atamanalp ¹³, geniş çaplı araştırmasında gökkuşağı alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss*) sentetik insektisid olan cypermethrin uygulamasıyla vakuoler dejenerasyon izlenen hepatositler uzantısında karaciğerde yağlanma, hemoraji, nekroz, yangı işareti olarak hücre infiltrasyonu ve fibrotik alanlarda genişlemeler olduğunu; Cengiz ve Unlu ¹⁴ ise *Gambusia affinis* karaciğerinde deltamethrine uygulamasının hipertrofi, nekroz ve yağ dejenerasyonlarına yol açtığını bildirilmişlerdir.

Ayrıca, sucul ortamlardaki kirliliğin belirlenmesi amacıyla karaciğer dokusunun incelendiği çalışmalar da bulunmaktadır. Seyhan Baraj Gölünde yaşayan *Cyprinidae* türleri üzerinde histolojik ve biyokimyasal yöntemleri kullanılarak yapılan bir çalışmada Gül ve ark.¹⁵; karaciğerin sinüzoidlere çok yakın bazı bölgelerindeki proliferen hepatositlerde yaygın dejenerasyon gözlediklerini, özellikle bir istasyondan toplanan örneklerde karaciğerde mikro ve makrovesiküller halinde yağlanma izlendiğini not ederek, tüm bu değişimleri baraj gölündeki kirlilikle ilişkilendirmişlerdir. Çine dere-sinin su kirliliğini belirlemeye yönelik araştırmalarında; Koca ve ark.¹⁶ ise *Lepomis gibbosus*'un karaciğerlerinde çeşitli histopatolojik bulgular gözlediğini bildirmektedirler.

Çalışmamızda deneme grubunda izlenen histopatolojik değişimler, yukarıda örneklenen raporlarda sunulan bulgularla büyük ölçüde uyum göstermektedir.

Sinüzoidlerde izlenen kanlanma olgusu, birçok farklı çalışmada hepatosellüler hasarın göstergesi olarak vurgulanmaktadır ^{11,17,18}. Organofosfat kirleticilerin uygulanması sonucunda *Corydoras paleatus* ¹⁹ ve *Prochilodus lineatus* ²⁰ hepatositlerinde de benzer bozulmalar olduğu bildirilmiştir. Çalışmamızda adeta parankimadan ayrılmış şekilde izlenen merkezi venlerde ve eritrosit şekillerinde saptanan değişimler, DOA uygulaması ile organofosfatların oluşturduğundan daha farklı ve büyük olasılıkla daha belirleyici patolojik bir bulgudur. Merkezi venlerde yer yer belirgin biçimde izlenen seperasyon, doku bütünlüğünün bozulması, dokunun dağılmaya yüz tutması anlamında, DOA etkisini belirleyici bir bulgu olarak değerlendirilmiştir. DOA'nın, *Labidochromis caeruleus*'ta, ilk maruziyet yüzeyi olan solungaçlar üzerinde de çarpıcı etkiler oluşturduğu bilinmektedir ²¹.

Uluslararası Kanser Araştırma Ajansının (IARC) çalışma gruplarının, DOA'nın insanlardaki toksik etkilerine ilişkin veri elde edemedikleri bildirilmektedir ²². Aynı raporda, fare ve sıçanlarda DOA maruziyetinin karaciğerde büyümeye, peroksizomlarda proliferasyona yol açtığı belirtilmektedir. Maruziyet sonucunda fare karaciğerinde gözlenen adenom ve karsinomlar sıçan karaciğerinde oluşmamıştır. Hem bu hayvanlarda, hem de kobaylarda bazı karaciğer enzimlerinde aktivasyon değişimleri not edilmekle beraber, DOA, insanlar için kanserojenik olarak sınıflandırılmamıştır. IARC, DOA'nın genotoksik olmadığını bildirmekte, ancak konuyla ilgili çalışmaların yetersiz olduğuna da vurgu yapmaktadır. Bu durumda, ekotoksikolojik etkileri konusunda çok az veri bulunan DOA'nın, çok daha dikkatle değerlendirilmesi gereken bir kimyasal olduğu açıktır.

KAYNAKLAR

1. Felder JD, Adams WJ, Saeger VW: Assessment of the safety of dioctyl adipate in freshwater environments. *Environ Toxicol Chem*, 5, 777-784, 1986.
2. Anonymous-US EPA: Technical factsheet on: Di (2-ethylhexyl) adipate. *Nation Primary Drink Water Reg*, 141, 13-61, 2006.
3. Tamaru CS, Cole B, Bailey R, Brown C, Ako H: A manual for commercial production of Swordtail, *Xiphophorus helleri*. University of Hawaii Sea Grant Extension Service, School of Ocean Earth Science and Technology (Honolulu, Hawaii), CTSA Publication Number 128, pp. 1-38, 2001.
4. Takashima F, Hibiya T: An Atlas of Fish Histology: Normal and Pathological Features. 2nd ed., pp. 100-112, Kodansha Ltd, Tokyo, 1995.
5. Weisman JL, Miller DL: Lipoid liver disease and steatitis in captive sapphire damsel *Pomacentrus pavo*. *Acta Ichthyol Piscatoria*, 36 (2): 99-104, 2006.

- 6. Hinton DE, Segner H, Au, DWT, Kullman, SW, Hartman, RC:** Liver toxicity. In, Di Giulio RT, Hinton DE (Eds): The Toxicology of Fishes, pp. 328-352, CRC Press Inc, Florida, 2008.
- 7. Arslan A, Dinçoğlu A, Güven A:** Su ürünleri ile insanlara geçen hastalıklar. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 1 (1-2): 103-107, 1995.
- 8. Buhler DR, Williams DE:** The role of biotransformation in the toxicity of chemicals. *Aquat Toxicol*, 11, 19-28, 1988.
- 9. Heath AG:** Liver. In, Water Pollution and Fish Physiology. 2nd ed., pp.125-136, CRC Press Inc, Florida, 1995.
- 10. Uçar A, Atamanalp M:** Balıklarda Toksikopatolojik Lezyonlar. I. *Atatürk Univ Ziraat Fak Derg*, 39 (2): 255-261, 2008.
- 11. 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.
- 12. Pacheco M, Santos MA:** Biotransformation, genotoxic and histopathological effects of environmental contaminants in European eel (*Anguilla anguilla L.*). *Ecotoxicol Environ Safety*, 53, 331-347, 2002.
- 13. Atamanalp M:** Bir sentetik piretroit insektisitinin subletal dozlarının gökkuşuğu alabalığı (*Oncorhynchus mykiss w.*, 1792)'na makroskopik, histopatolojik, hematolojik ve biyokimyasal etkileri. *Doktora Tezi*, Atatürk Üniv Fen Bil Enst, Erzurum, 2000.
- 14. Cengiz Eİ, Unlu E:** Sublethal effect of commercial deltamethrin on the structure of the gill, liver and gut tissues of mosquitofish, *Gambusia affinis*: A microscopic study. *Environ Toxicol Pharmacol*, 21, 246-253, 2005.
- 15. Gül, Ş, Ergül B, Yıldız E, Şahan A, Doran F:** Pollution correlated modifications of liver antioxidant systems and histopathology of fish (Cyprinidae) living in Seyhan Dam Lake, Turkey. *Environ International*, 30, 605-609, 2004.
- 16. Koca, YB, Koca S, Yıldız Ş, Gürcü B, Osanç E, Tunçbaş O, Aksoy G:** Investigation of histopathological and cytogenetic effects on *Lepomis gilbosus* (Pisces: Perciformes) in the Çine stream (Aydın/Turkey) with determination of water pollution. *Environ Toxicol*, 20, 560-571. 2005.
- 17. 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.
- 18. Romano S, Donatti L, Freitas MO, Teixeira J, Kusma J:** Blood parameter analysis and morphological alterations as biomarkers on health of *Hoplias malabaricus* and *Geophagus brasiliensis*. *Brazil Arch Biol Technol*, 49, 441-448, 2006.
- 19. Fanta E, Rios FS, Romão S, Vianna ACC, Freiburger S:** Histopathology of the fish *Corydoras paleatus* contaminated with sublethal levels of organophosphorus in water and food. *Ecotoxicol Environ Safety*, 54, 119-130, 2003.
- 20. Camargo MMP, Martinez, CBR:** Histopathology of gills, kidney and liver of a neotropical fish caged in an urban stream. *Neotrop Ichthyol*, 5 (3): 327-336, 2007.
- 21. İşisağ Üçüncü S, Önen Ö, Ergen G, Üreten M, Boz E, Seferoğlu K, Gökçe B:** Dioktil adipat'ın (DOA) *Labidochromis caeruleus*'un Fryer, 1956 (Cichlidae, Teleostei) solungaç histolojisi üzerine etkileri. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 16 (2): 343-346, 2010.
- 22. Anonymous-IARC:** Summaries & Evaluations, di(2-ethylhexyl) adipate. *IARC 77*, 149-154, 2000.