

**TALYUM TOKSİSİTESİNİN *Gammarus pulex* de
MEYDANA GETİRDİĞİ İNCE YAPI DEĞİŞİKLİĞİ**

Fatma Özgül ÖZALP

Yüksek Lisans Tezi
Biyoloji Anabilim Dalı
Ocak-2007

JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI

Fatma Özgül Özalp'in "Talyum Toksisitesinin *Gammarus pulex* de Meydana Getirdiği İnce Yapı Değişikliği" başlıklı Biyoloji Anabilim Dalındaki, Yüksek Lisans Tezi 15.12.2006 tarihinde, aşağıdaki jüri tarafından Anadolu Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca değerlendirilerek kabul edilmiştir.

Adı-Soyadı	İmza
Üye (Tez Danışmanı): Prof. Dr. MEHTAP KUTLU
Üye : Prof. Dr. AHMET ÖZATA
Üye : Yard. Doç. Dr. HÜSEYİN BERBER

Anadolu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun
..... tarih ve Sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Enstitü Müdürü

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

TALYUM TOKSİSİTESİNİN *Gammarus pulex* de MEYDANA GETİRDİĞİ

İNCE YAPI DEĞİŞİKLİĞİ

F. Özgül ÖZALP

Anadolu Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. H. Mehtap KUTLU
2007, 39 sayfa

Talyum elementi, yer kabuğunda maden damarlarında bulunan, yumuşak, dövülebilir, mavimsi beyazlıkta bir metaldir. Talyum sulu çözeltilerinde çok tehlikeli toksik bir elementtir. Aquatik toksikoloji için yıllar boyunca tatlı su omurgasızları kullanılmıştır. *Gammarus* da bunlardan birisidir. Bu çalışmada, histolojik değişimler ve E vitamininin etkileri bir tatlı su amphipodu olan *Gammarus pulex* de çalışılmıştır. *Gammarus pulex*'de talyum asetat için EC₅₀ değeri 0,240 µl olarak bulunmuştur. Bu değer *Gammarus pulex*lere uygulanarak talyum asetatın hepatopankreatik sekasında toksik etkisi ışık ve elektron mikroskopundaki histolojik değişiklikler gözlenmiştir. Yapılan histolojik çalışmalar sonucunda hücre zarında zar bütünlüğünü bozucu değişimler, mitokondrilerde krista kayıpları gibi değişimler gözlenmiştir. Çekirdekde de belirgin büzülme ve bozulma gözlenmiştir. Hayvanlara verdiğimiz ilk E vitamini dozlarında (2ml, 0,5ml ve 0,25ml) iyileştirmekten çok talyumun zararlı etkisini arttırdığı görülmüştür. Dozları azaltılarak verdiğimiz E vitamini (0,25 ml, 0,125 ml, 0,0625ml ve 0,03125 ml) kontrol grubuyla karşılaştırdığımızda etkili olmuş hücre zarında kısmen iyileşme gözlenmiştir. Ayrıca mitokondri iç ve dış zarları ile granüllü endoplazmik retikulumda doku bozukluklarında da azalma belirlenmiştir. Hepatositteki lipid damlacıklarında da azalış gözlenmiştir. Yapılan çalışmada talyumun *Gammarus pulex*'in hepatopankreatik sekasında yarattığı bozuklukları E vitaminin iyileştirici etkisi gözlemlenmiştir.

Anahtar Kelimeler:Talyum asetat, E vitamini, Elektron mikroskop, Hepatopankreatik seka, *Gammarus pulex*

ABSTRACT

Master of Science Thesis

THALLIUM INTOXICATION ON THE ULTRASTRUCTURE OF

Gammarus pulex HEPATOPANCREATIC CELLS

F. Özgül ÖZALP

Anadolu University
Graduate School of Sciences
Biology Program

Supervisor: Prof. Dr. H. Mehtap KUTLU

2007, 39 pages

Thallium (TI) is a soft, malleable, bluish-white metal that is found in trace amounts in the earth's crust. TI is extremely toxic in aqueous solutions. The fresh water invertebrate has been used as test organism to aquatic toxicology for many years. The genus *Gammarus* has been particularly popular. In the present study, the fresh water amphipod *Gammarus pulex* was chosen as a histological changes and effects of vitamin E on recovery were studied. EC_{50} value for thallium acetate was found 0,240 μ l at *Gammarus pulex*. The histological changes were determined with electron microscopic and light microscopic by the application of the value to *gammarus pulex*. Degenerative changes were frequently present in the cellular membrane, there were changes in mitochondria as partial or total loss of cristae. Nucleus showed significant shrinkage and deformation. We observed; fragmentation and dilation of the rough endoplasmic reticulum (RER). When we compare control groups and experiment animals relatively recovery was observed in the cellular membrane in particular. The number of lesions were also decreased in the inner and outer mitochondrial membranes and also in the RER. Lipid droplets were observed more sparse in the hepatocytes. In this study, it is observed that vitamin-E has recovering effect on disorders in hepatopancreatic sequence of *gammarus pulex* caused by thallium.

Keywords: Thallium acetate, Vitamin E, Electron microscope, Hepatopancreatic ceca,
Gammarus pulex

TEŐEKKÖR

Bu tezin yűrűtűlmesinde bilgisi ve eleŐtirileriyle rehberliĐi için danıŐmanım ve deĐerli hocam Sayın Prof. Dr Mehtap KUTLU' ya, Elektron Mikroskop doku takibi çalıŐmalarımnda bana yardımını esirgemeyen Arzu İŐCAN' a ve beni bugűnlere ulaŐtıran, maddi, manevi desteklerini ve sevgileriyle her zaman yanımda olan çok deĐerli aileme teŐekkűr ederim.

F.Özgűl ÖZALP

Ocak, 2007

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
İÇİNDEKİLER.....	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	vi
Kısaltmalar	vii

1.GİRİŞ.....	1
--------------	---

2. GENEL BİLGİLER.....	2
------------------------	---

2.1. Talyum asetat'ın kimyasal yapısı.....	2
2.1.1. Talyum asetat kimyasalının insan üzerine etkisi.....	5
2.1.2 . Talyum asetat kimyasalının çevre üzerine etkisi.....	6
2.2. E vitamininin kimyasal yapısı.....	7
2.3. E vitamini gereksinimi.....	8
2.4. E vitamininin vücuttaki fonksiyonları.....	8
2.5. E vitaminin etkileri.....	9
2.6. E vitaminin eksikliğinde meydana gelen değişiklikler.....	10
2.7. E vitaminin fazlalığında meydana gelen değişiklikler.....	11
2.8. E vitaminin tedavide kullanımı.....	12
2.9. <i>Gammarus pulex</i> 'in sistematikteki yeri.....	13
2.9.1. <i>Gammarus pulex</i> 'in fizyolojik özellikleri.....	16

3. MATERYAL-METOT.....	18
------------------------	----

3.1. Materyal.....	18
3.1.1. Deneylerde kullanılan canlıların sağlanması ve laboratuarda yetiştirilmesi.....	18
3.1.2. Kullanılan çözeltiler.....	19

3.1.3	Elektron mikroskobunda kullanılan kimyasal maddelerin içerikleri ve hazırlanması.....	19
3.2.	Metot.....	21
3.2.1.	Talyum asetatın <i>Gammarus pulex</i> için EC ₅₀ değerinin saptanması.....	21
3.2.2.	Uygulanan E vitamini Dozları.....	21
3.3.	Transmisyon Elektron Mikroskobunda doku takibi.....	21
3.3.1	Fiksasyon.....	21
3.3.2.	Yarı ince kesitler.....	22
3.3.3.	İnce kesitler.....	23
4.	BULGULAR.....	23
4.1.	Talyum asetat'ın <i>Gammarus pulex</i> için EC ₅₀ değeri.....	23
4.2.	Uygulanan E vitamini Dozlarına ait değişimler.....	24
4.3.	Işık mikroskobunda görülen histolojik değişimler.....	25
4.4.	Elektron mikroskobunda görülen histolojik değişimler.....	27
5.	TARTIŞMA-SONUÇ.....	34
	KAYNAKÇA.....	37

ŞEKİLLER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
1.1. Periyodik cetvelde talyumun yeri.....	3
1.2. Grup IIIA elementleri.....	4
1.3. E vitamininin kimyasal formülü.....	7
1.4. Bir <i>gammarus</i> sp 'nin genel vücut yapısı.....	17
1.5. <i>Gammarus pulex</i> spp nin genel görüntüsü.....	18
2.1. <i>Gammarus pulex</i> 'in Hepatopankreatik seka hücrelerinin yarı ince kesiti (1000nm)x40.....	23
2.2. <i>Gammarus pulex</i> ' de Talyum asetat için EC ₅₀ değerinin saptanması ile ilgili doz arama sonuçları.....	24
3.1. Kontrol organizması hepatopankreatik seka hücreleri x40	24
3.2. Kontrol organizması hepatopankreatik seka hücreleri x40	25
3.3. Deney organizması : hepatopankreatik seka hücreleri x 40.....	25
3.4. 0,25 ml E vitamini verilen <i>gammarus pulex</i> lerde hepatopankreatik seka hücreler.....	26
3.5. 0,03125 ml E vitamini verilen <i>gammarus pulex</i> lerde hepatopankreatik seka hücreler	26
3.6. Kontrol organizması :çekirdek x 12000.....	27
3.7. Kontrol organizması mitokondri x 8000.....	28
3.8. Kontrol organizması: yağ hücreleri x4000.....	29
3.9. Kontrol organizması : yağ hücreleri (yh) x4000çekirdekx8200.....	30
3.10 Talyum asetata maruz bırakılan <i>Gammarus pulex</i> 'in hepatopankreatisi' ndaki hücre çekirdeği	31
3.11 Talyum asetat ile birlikte 0,125 ml E vitamini verilen <i>Gammarus pulex</i> 'in hepatopankreatisi' ndaki hücre çekirdeği x 9900.....	32

KISALTMALAR

TI	:Talyum
$C_2H_3O_2TI$:Talyum asetat
Na_2HPO_4	:Disodium hydrogen phosphate dedecahydrate
KH_2PO_4	:Potassium dihydrogen phosphate
EC ₅₀	:Efektif konsantrasyon 50
RER	:Granüllü endoplazmik retikulum
TII	:Talyum iyodür
TIBr	:Talyum bromür
B_2O_3	:Bor tiroksin
WHO	:World Health Organization
PUFA	:Poliansatüre yağ asidleri
DNA	:Deoksiribonükleik asit
IU	:International Unit
HDL	:High Density Lipoproteins
EPA	: <u>Environmental Protection Agency</u>
DDSA	:Dodecenylsuccinicanhydride
BDMA	:Benzyl dimethylamine
NaOH	:Sodyumhidroksit
M	:Molar
μ	:mikron
μ l	:mikro litre
ml	:mililitre
mm	:milimetre
nm	:nanometre

1.GİRİŞ

Çeşitli kimyasal maddelerle kirletici faktörlerin etkisi sonucunda hava ve su kirliliği artmakta ve toksikoloji biliminin önemi artmaktadır. Toksikoloji kelime olarak “zehir bilimi”dir. “Toksikoloji, kimyasallar ile biyolojik sistem arasındaki etkileşmeleri zararlı sonuçları yönünden inceleyen bilim dalıdır” başka bir deyişle “toksikoloji kimyasalların zararsızlık limitlerini belirleyen bilim dalıdır” şeklindeki tanımlar toksikolojinin günümüzdeki işlevini daha kolay anlatabilmektedir[1].

Bu çalışmada talyum asetatın *gammarus pulex*'lerin hepatopankreas seka hücrelerinde meydana getirdiği hücresel değişikliklerle birlikte E vitamininin iyileştirici etkisini elektron mikroskobunda inceleyerek göstermeye çalıştık.

Amphipoda grubu toksik kimyasallara karşı akut toksisite testlerinde kullanılan en hassas gruplardan birisidir. Çok çeşitli toksik maddelere hassasiyetlerinden, çabuk üreyebilmelerinden, çok sayıda toplanabilmelerinden dolayı *gammarus pulex*'lerin toksikolojik çalışmalardaki kullanımını giderek artmaktadır.

Talyum doğada çok az miktarda bulunur. İnsanlar tarafından çok yoğun olarak kullanılmaz, sadece fare zehri olarak ve elektro-teknik ve kimya endüstrisinde kullanılır. İnsan vücudu talyumu deri yoluyla, solunum organlarıyla ve sindirim yoluyla çok etkili bir şekilde emer. Talyum zehirlenmesine çoğunlukla büyük miktarlarda talyum sülfat içeren fare zehrinin kazara alınması sebep olur. Bunun sonucunda karın ağrısı görülür ve sinir sistemi tahrip olur. Bazı durumlarda tahrip geri dönülemez boyutlara ulaşır ve ölümle sonuçlanabilir[2].

E Vitamini yağda eriyen vitaminlerdendir. Alfa, beta, gama ve delta tokoferollerini içerir. Temel görevi antioksidan etkisidir. Antioksidan etki okside olmayı, yani oksijen ile bozulmayı önlemek demektir. Oksijeni tutarak, oksijen etkisi ile oluşabilecek istenmeyen etkilerin önüne geçer. Hücrelerin genel sağlığını korumak gibi özellikleri de vardır[3].

2. GENEL BİLGİLER

2.1 Talyum Asetat'ın Kimyasal Yapısı

Talyum(Tl), periyodik tablonun IIIA grubunda yer alan bir elementtir[4]. Ekonomik değeri az olan talyum zehirlidir ve bileşiklerinde çoğunlukla +1 değerlidir. Talyum, kurşun gibi yumuşak, erime noktası düşük bir metaldir. Talyumun yeni kesildiğinde metalse bir parlaklığı vardır, ama havada yavaş yavaş mavimsi gri bir renk kazanarak matlaşır. Havada uzun süre kaldığında yükseltgenmesi sürer ve üzerinde ağır, koruyucu olmayan bir oksit katman oluşur. Hidroklorik ve seyreltik sülfürik asitte yavaş yavaş, nitrik asitte ise hızla çözünür.

Doğada kalaydan daha az bulunan talyum, yalnızca ekonomik değeri olmayan birkaç mineralde bulunur. Çinko ve kurşun sülfür cevherlerinde de eser miktarda talyuma rastlanır; bu cevherler kavrulduğunda talyum baca gazında yoğunlaşır ve buradan elde edilir.

Talyum 1861'de Sir William Crookes adlı bir İngiliz [5] ve 1862'de Lamy adlı bir Fransız [6] tarafından keşfedilmiştir. Çok reaktif bir metal olan talyum [7,8,9,10,11,12] 20°C de havada yavaş yavaş oksitlenerek talyum(I) oksit ve talyum (III) oksite dönüşürken ısıtma esnasında bu durum daha hızlı gerçekleşir. Bu nedenle talyum benzin, kresol ve gliserin içerisinde saklanır [10].

Yerkabuğunda talyum konsantrasyonu 1-3 ppm civarında olup en sık rastlanan 58. element olarak bilinmektedir [9,10]. Talyum doğada sülfürlü ve alkali metallerin yer aldığı cevherlerde ve deniz suyunda da bulunmaktadır [7,8,10,11].

Çözülebilir talyum bileşikleri zehirlidir ve metalin kendisi nemli hava ya da deriyle temas ettiğinde bu tür zehirli bileşiklere dönüşür. Talyum zehirlenmesinin semptomları insanlarda saç dökülmesi, mide bulantısı, kusma, karın ağrısı, taşikardi ve kalpte aritmik bozukluklar, kalp durması [13] yada nefes alamamaktan dolayı ölümle sonuçlanır [14]. Ayrıca nörotoksin olduğundan dolayı

zehirlenmeden 1- 2 gün sonra titreme adale bozukluğu, göz kapağında sarkma görülür[4] .

Bor grubu elementlerinden en ağır olan talyum, grubun öbür elementlerinin üç değerlikli olmasına karşılık büyük çoğunlukla bir değerliklidir. Sudaki renksiz ve daha kararlı talyum I iyonları daha ağır alkali metal iyonlarına benzer davranışlar gösterir. Talyum III bileşikleri kolayca talyum I bileşiklerine indirgenir [15].

Talyum metalinin ve bileşiklerinin ekonomik bir değeri yoktur. Böcek ilacı olarak kullanılan talyum I sülfat, 1960'lardan beri yerini başka maddelere bırakmıştır. Talyum I bileşiklerinin birkaç sınırlı kullanım alanı vardır. Kızılötesi ışınları geçiren talyum iyodür (TII) ve talyum bromür (TIBr) kristalleri karışımından kızılötesi optik sistemlerinde mercek, pencere ve prizma olarak yararlanır. Talyum sülfür çok duyarlı fotoelektrik pillerin, oksisülfür ise kızılötesi ışığa duyarlı fotosellerin temel bileşenidir. Ayrıca talyum oksit kırınım gücü oldukça yüksek optik camların bileşiminde ve yapay mücevherlerin renklendirilmesinde kullanılır. Sodyum iyodür gibi alkali halojenür kristalleri ise ışınım algılayıcı kırpışım (sintilasyon) sayaçlarında kullanılan inorganik fosforu elde etmek amacıyla talyum bileşikleri tarafından etkinleştirilir.

Periyodik sistemdeki yeri:

Periyodik Tablo

1 1A 1 H	2 2A 4 Be												13 3A 5 B	14 4A 6 C	15 5A 7 N	16 6A 8 O	17 7A 9 F	18 8A 10 Ne
11 Na	12 Mg	3 3B 21 Sc	4 4B 22 Ti	5 5B 23 V	6 6B 24 Cr	7 7B 25 Mn	8 26 Fe	9 8B 27 Co	10 28 Ni	11 1B 29 Cu	12 2B 30 Zn	13 Al	14 Si	15 P	16 S	17 Cl	18 Ar	
19 K	20 Ca	39 Y	40 Zr	41 Nb	42 Mo	43 Tc	44 Ru	45 Rh	46 Pd	47 Ag	48 Cd	49 In	50 Sn	51 Sb	52 Te	53 I	54 Xe	
55 Cs	56 Ba	57 La	72 Hf	73 Ta	74 W	75 Re	76 Os	77 Ir	78 Pt	79 Au	80 Hg	81 Tl	82 Pb	83 Bi	84 Po	85 At	86 Rn	
87 Fr	88 Ra	89 Ac	104 Rf	105 Db	106 Sg	107 Bh	108 Hs	109 Mt	110 Unn	111 Unn	112 Unn							
58 Ce	59 Pr	60 Nd	61 Pm	62 Sm	63 Eu	64 Gd	65 Tb	66 Dy	67 Ho	68 Er	69 Tm	70 Yb	71 Lu					
90 Th	91 Pa	92 U	93 Np	94 Pu	95 Am	96 Cm	97 Bk	98 Cf	99 Es	100 Fm	101 Md	102 No	103 Lr					

Şekil 1.1 : Periyodik cetvelde talyumun yeri

Atom numarası : 81
Kütle numarası :204.31⁻¹ mol⁻¹
Erime noktası (C) :303°C

Simge :Tl
Yoğunluk:11.8 g.cm⁻³
Buharlaştırma ısısı:38.8°C

Talyum periyodik cetvelin III A grubunda yer alan bir elementtir. IIIA grubu elementlerinin bor hariç hepsi metaldir. Özellikleri bakımından metallerle ametaller arasında olduğundan bor bir yarı metaldir. Grup III elementleri s ve p orbitallerindeki elektronlarını kaybederek soy gaz yapısına ulaşırlar. Böylece hepsinin +3 değeriği vardır (şekil 1.2). Grup III elementlerinden galyum ve indiyum d orbitallerindeki elektronlarının bulunması nedeniyle en dış s yörüngesinin enerji seviyesi, en dış p yörüngesinden çok daha aşağıdadır ve yalnız p orbitellerindeki ektronunu vererek kararlı bir yapıya sahip olabilir.

Element	Sembol	Elektron Dağılımı	Değerlik
Bor	B	[He] 2s ² 2p ¹	3
Alüminyum	Al	[Ne] 3s ² 3p ¹	3
Galyum	Ga	[Ar] 3d ¹⁰ 4s ² 4p ¹	1,3
İndiyum	In	[Kr] 4d ¹⁰ 5s ² 5p ¹	1,3
Talyum	Tl	[Xe] 4f ¹⁴ 5d ¹⁰ 6s ² 6p ¹	1,3

Şekil 1.2: Grup IIIA elementleri

Böylece +3'ten başka +1 değeriğleri de olabilir. Talyum atomlarında ise d den başka f elektronları bulunduğundan s ve p arasındaki enerji farkı çok daha büyüktür ve bu nedenle +1 değeriğine +3 ten daha çok rastlanır. S bloku elementleri ile karşılaştırsak onlarda sadece bir çeşit (+1 veya +2) değeriğ bulunduğ halde p bloku elementlerinden birden fazla değeriğlilik vardır.

Oksitlerinin sudaki çözeltileri değişik özellikler gösterirler. Bor triksidin (B₂O₃) sudaki çözeltisi asit özelliği gösterdiği halde alüminyum ve galyum oksitleri **amfoter maddeler**dir. Grubun son iki elementinin oksitleri ise baziktir. Bu durumda, grupta aşağıya inildikçe oksitlerin bazlık özelliği artar [16].

2.1.1 Talyum asetat kimyasalının insan üzerine etkisi

İnsan metabolizması talyum asetata maruz kaldığında özellikle deri yoluyla, solunum organlarıyla ve sindirim yoluyla çok etkili bir şekilde emilir. Talyum asetata maruz kalındığında sinir sistemi zarar görür bazı vakalarda ölümlerle sonlandığı da görülmüştür.

Talyum iyonları kolaylıkla sindirim bölgesinden emilir ve buradan çeşitli dokulara dağılarak böbrekler, miyokart, testis, tükürük bezleri, bağırsak, iskelet kasları, tiroid bezleri ve böbreküstü bezlerinde yüksek konsantrasyonlarda birikir. Solunum yoluyla talyum tozları içeren tozların alınımı toksikolojik etkiyi artırır. Deri yoluyla emilimi özellikle talyum içeren merhem kullanımdan sonra mümkün olmaktadır. Kuvvetli akut zehirlenmeden sonra TI iyonları dışkı yoluyla boşaltılır. Bildirilen bağırsak-karaciğer sirkülasyonu boşaltımın yarılanma ömrü 1,7 ile 30 gün arasında değişmektedir [7,8,10].

Talyumun zararlı etkileri yanında tıpta kardiyolojide kullanımı da vardır. Talyum miyokard kasında tıkanıklılık ya da iskemi tanısında kullanılır çünkü talyum sintigrafisi koroner rahatsızlıkları ortaya çıkarmada oldukça hassastır[4]. Tıpta talyum testi denilen bu test Miyokard Perfüzyon Sintigrafisi olarak da bilinir. Bu yöntem, damar yoluyla verilen radyoaktif bir maddenin kalp kasını besleyen, koroner damarlarda darlık veya tıkanıklık bulunup bulunmamasına bağlı olarak miyokarda tutulması ve bu tutulumun sintigrafi cihazlarda görüntülenmesi esasına dayanmaktadır.

Görüntüleme amacıyla önceleri radyoaktif madde olarak **Talyum** kullanıldığı için yöntem “**Talyum testi**” olarak da tanınmaktadır. Bugün radyoaktif ajan olarak daha çok teknesyuma bağlanmış bazı maddeler kullanılmaktadır. Bu nedenle “**Teknesyum testi**” diye tanımlayanlar da vardır.

Ayrıca egzersiz testi ile birlikte ilaç enjeksiyonu ve görüntüleme yapıldığından halk arasında “İlaçlı Egzersiz Testi” diye de tanınmaktadır. Egzersiz stresi sonrası ve istirahatte kalp kasında radyoaktif maddenin tutulumundaki bölgesel farklar kişide koroner arter hastalığı bulunup bulunmadığı hakkında bilgi verecektir. Bu yöntem ile koroner anjiyografide olduğu gibi damarların neresinde ve ne oranda darlık bulunduğunu değil en az bir damarda önemli ölçüde darlık olup olmadığını söylemek de mümkün olmaktadır. Bu yöntem koroner arter hastalığının tanısı yanında balon anjiyoplasti ve koroner baypas ameliyatının gerekli veya yararlı olup olmayacağı konusunda karar vermek için de kullanılmaktadır [17].

2.1.2 Talyum asetat kimyasalının çevre üzerine etkisi:

Talyum, kısmen suda çözülebilirdir ve bu nedenle araziler yüksek miktarda bileşen içerdiğinde yeryüzü sularıyla birlikte dağılabilir. Talyum ayrıca sulu çamur üzerinde absorpsiyonla da dağılabilir. Talyumun araziler içinde oldukça hareketli olduğu hakkında bilgiler vardır[18]. Talyum özellikle mantarda birikebilmektedir. İnsan aktivitelerine bağlı olarak yer kabuğunda ve atmosferde eser miktarlarda talyum bulunmaktadır. Talyum biyo-akümülatif olduğundan besin zincirinden geçebilmekte ve bitki ile hayvanlarda olduğu gibi balık ve kabuklu deniz hayvanlarında da birikebilmektedir[11]. Talyumun endüstriyel olarak çeşitli kullanım alanları bulunmaktadır; optik camların üretiminde, yarı iletkenlerde, bazı alaşımlarda, düşük-sıcaklık termometrelerinde, devre anahtarlarında (şalter), kimya endüstrisinde, katalitik proseslerde ve yeşil havai fişeklerin yapısında kullanılmaktadır [11].

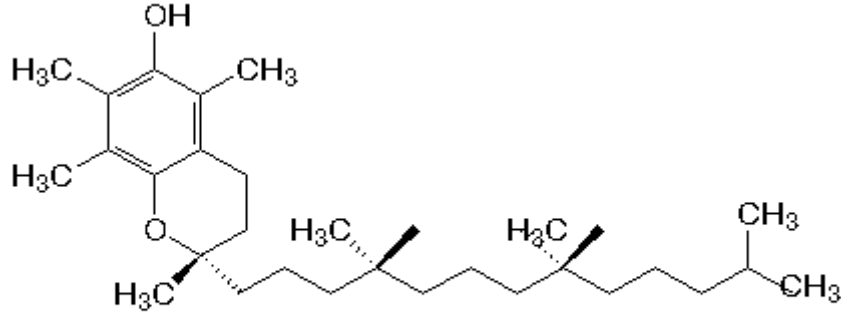
Ancak mesleki maruz kalmanın taşıdığı sağlık riskleri sebebiyle kullanımı düzenlenmiştir. Dünyada bazı bölgelerde talyum, kemirgen hayvan öldürücü ilaçlarda kullanıldığı gibi sigara dumanında da bulunmuştur.

Talyum, fareler için çok zehirlidir ve bu nedenle fare zehri olarak da kullanılmaktadır. Talyum ayrıca yapraklarda renk değişimi ve büyüme zayıflıkları gibi, bitkiler üzerinde de negatif etkileri bulunmaktadır. Memeliler, örneğin tavşan, insanlar gibi talyumun zehirli etkilerine karşı hassastırlar. Fare zehrine

maruz kalan insanlar ya da çimento fabrikasında çalışan insanların talyumdan zehirlendikleri belirtilmiştir[19].

Dünya sağlık örgütü (WHO) 1970'lerin başında talyumun kullanılmasını yasakladı. II. Dünya Savaşı sırasında talyum bileşikleri askeri araştırmalar ve lazer üretiminde kullanılmıştır. Bunun yanında insanlara doğada besin zinciri yoluyla yüksek potansiyel risk teşkil eder[15].

2.2 E Vitamininin kimyasal yapısı



Vitamin E (α -tocopherol)

Şekil 1.3. : E vitamininin kimyasal formülü

Antioksidan (oksitlenmeyi önleyici) etki gösteren bir grup tokoferol maddelere kısaca E vitamini denmektedir[20]. Tanımlanmış 7 ayrı formu olmasına karşın genellikle üzerinde durulan alfa tokoferoldür[21]. Bu bileşiğin etkisi uzun yıllardır bilinmesine karşın son 10 yılda oldukça popüler olmuştur.

Alfatokoferol ısıya ve asitlere oldukça dayanıklıdır. Diğer tokoferoller gıdaların ısıtılma, pişirme, dondurulma ve işlenme esnasında tahrip olurlar. Tahılların öğütülmesi, unun renginin beyazlatılması, yağda kızartma ve fırında sığağa maruz kalma sonucunda E vitaminin çoğu yok olur.

E vitamini bağırsaklardan önce lenf sistemine sonra da kan yoluyla karaciğere gelir. Kullanılmayan miktarın fazlası genellikle dışkı ile atılır. Depo edilebilen kısmın çoğu yağ doku ve karaciğerdedir. Daha az miktarda da kalp, adale dokusu, testis, rahim, böbrek üstü bezi, beyin ve kanda depo edilir. Ayrıca deriden de emilebilme özelliği vardır.

2.3 E Vitamini Gereksinimi

Günlük gerekli miktarı vücut ebatlarına ve beslenmede bulunan uzun zincirli yağların oranına göre değişmektedir. Yenilen rafine yağlar, yağda kızartılmış yiyecekler ihtiyacı arttırmaktadır.

2.4 E Vitamininin Vücuttaki Fonksiyonları

- En iyi Antioksidan olarak bilinir. Hücre zarı ve taşıyıcı moleküllerin lipid kısmını stabilize ederek hücreyi serbest radikaller, ağır metaller, zehirli bileşikler, ilaç ve radyasyonun zararlı etkilerinden korur.
- İmmun sistemin aktivitesi için gereklidir. Timus bezini ve alyuvarları korur. Virütik hastalıklara karşı bağışıklık sistemini geliştirir.
- Göz sağlığı için hayati önem taşır. Retina gelişimi için gereklidir. Serbest radikallerin katarakt yapıcı etkilerini önlemektedir.

Yaşlanmaya karşı koruyucudur. Serbest radikallerin dokular, deri ve kan damarlarında oluşturduğu dejeneratif etkiyi önler. Yaşlanmayla ortaya çıkan hafıza kayıplarını da önleyici etkisi vardır.

2.5 E Vitamininin Etkileri

Temel görevi antioksidan etkisidir. Antioksidan etki okside olmayı, yani oksijen ile bozulmayı önlemek demektir. Oksijeni tutarak, oksijen etkisi ile oluşabilecek istenmeyen etkilerin önüne geçer. Çok güçlü bir antioksidan olan E vitamini, hücre membran fosfolipidlerinde bulunan poliansatüre yağ asitlerinin serbest radikal etkisinden koruyan ilk savunma hattını oluşturur. Bir molekül alfa tokoferol 100 molekül PUFA'nın peroksidasyonunu engelleyebilir. E vitamini, superoksit ve hidroksil radikallerini singlet oksijeni lipid peroksi radikalini ve diğer radikal örneklerini indirger. Glutasyon peroksidaz ile E vitamini serbest radikallere karşı birbirlerini tamamlayıcı etki gösterirler. E vitamini zincir kırıcı bir antioksidan olarak bilinir. Çünkü fonksiyonları, lipid peroksi radikallerini parçalamak ve böylece lipid peroksidasyon zincir reaksiyonlarını sonlandırmaktadır. Tokoferolün antioksidan etkisi yüksek oksijen konsantrasyonların da etkilidir. E vitamini okside olduktan sonra ve parçalanmadan önce, askorbik asid ve glutasyon tarafından yeniden indirgene bilmektedir.

Bu reaksiyon, bu maddelerin konsantrasyonlarına veya indirgenmiş formlarını devam ettiren enzimlere bağlıdır. Bu yolla, tokoferol radikali bir vitamin E radikal redüktaz aktivitesiyle E vitamininin doğal şekline dönüştürebilir. Solunum havası ile dışarı atılan pentan miktarı, lipid peroksidasyonunun bir göstergesidir. Diyetle verilen E vitaminin, solunum havasındaki pentan miktarını azalttığı tespit edilmiştir [22].

E vitamini Gıda endüstrisinde yağ ve yağlı gıdaların oksitlenmesi ile acı tat almasının engellenmesi amacı ile de kullanılırlar. Hücrelerin genel sağlığını korumak gibi özellikleri de vardır. Hücrelerdeki yağların oksijen ile bozulması sonucu bazı pigmentler oluşur (yaşlılık lekeleri). E vitamini bunu engelleyebilir.

Doymamış yağ asitlerinin oksidasyonunu azaltarak hücre zarı oluşumuna yardımcı olur. Lipid zarlarının ve doymamış yağ asitlerinin oksijenin etkisi ile

yıkılmasını önler. Serbest radikaller denen zararlı maddelerin dokuları tahrip etmesini önler. Bu özelliği ile damar sertliği, kalp hastalıkları, hipertansiyon, eklem iltihabı, yaşlanma sorunları üzerine olumlu etkileri olmaktadır.

Enzim sistemleri ve DNA molekülünün dayanıklılığını arttırır. Deri, karaciğer, meme ve testis gibi oksidasyona hassas dokuları ve hücreleri korur. Akciğeri havanın içerisindeki zararlı maddelerden korur.

Oksidasyondan etkilenen A Vitamininin biyolojik aktivitesine yardımcı olur. Böbrek üstü bezi ve beyinden salınan hormonları dayanıklı kılar. Vücutta normal dışı hücre üremesini engeller. Bu özelliği ile tümör oluşumuna karşı etki gösterir. Pıhtılaşmayı ve alyuvar zarlarının parçalanmasını önleyici etkisi vardır. Kalp ve adale hücrelerinin oksijen gereksinmesini azaltarak bu sistemlerin daha rahat çalışmalarını sağlar.

Trombosit denilen kandaki bir tür pıhtılaşma hücrelerinin birbirlerine yapışmalarını engeller. Bu etkisinin kalp ve damar hastalarında kullanılan aspirinden daha güçlü olduğu yönünde çalışmalar vardır.

Kısırlık önleyici ve cinsel gücü arttırıcı etkisi deney hayvanlarında gösterilmiş olmasına karşın insanlarda kesinlik kazanmamıştır.

2.6 E Vitamininin Eksikliğinde meydana gelen değişiklikler

Eksikliği insanlarda normalde görülmez. Eksikliğini ortaya koymak pek kolay değildir. Diğer vitaminler gibi eksikliğini gösteren hastalıklar yoktur. Sinir sistemi, üreme, dolaşım sistemi ve adaleler üzerine olan etkileri bilinmesine karşın diğer besin maddeleri bu eksikliğı örtebilir. Besinlerde miktarı fazla olup insan vücudu ihtiyacını kolaylıkla karşıladığı için, ancak hayvanlarda deneysel olarak eksikliğı oluşturulmuş ve bazı sonuçlara varılmıştır.

İnsanlarda ise kandaki seviyesi ölçülerek bazı hastalarda düşük olduğu görülmüştür. Akne, anemi, enfeksiyon, bazı kanser türleri, diş eti hastalıkları, safra kesesi taşı, sinir-adale hastalıkları, Alzheimer tipi sorunları olan kişiler buna örnektir.

Prematüre bebeklerde eksikliğine bağlı olarak anemi olabilir. E Vitamini anneden çocuğa kan yoluyla geçmez ama anne sütüyle geçer. Doğumdan sonra anne sütü alamayanlarda eksikliği özellikle inek sütüyle beslendiklerinde görülebilir. Kan hücreleri dayanıksız olup kolaylıkla parçalanmaktadırlar. Parçalanan bu hücrelerden ortaya çıkan yıkım ürünlerinin etkisiyle adalelerde normal dışı yağlanma ve karaciğer ile dalak sorunları oluşur. İnsanlarda deneysel olarak eksikliğini yaratabilmek için kasıtlı olarak bir yıldan uzun süreli özel diyet uygulanması gereklidir.

2.7 E Vitamininin Fazlalığında meydana gelen değişiklikler

Fazlalığının zararlı bir etkisi bu güne kadar görülmemiştir. Çünkü diğer yağda eriyen vitaminler kadar depolanamazlar. Gereğinden fazla alınanlarda birkaç gün içerisinde dışkı ve idrarla vücuttan uzaklaştırılır.

Çok yüksek dozları bulantı ve ishal yapabilir.

Hayvan deneylerinde yüksek dozların büyümeyi durdurduğu, adaleleri zayıflattığı, alyuvar sayısını azalttığı ve kemikleşmeyi yavaşlattığı görülmüştür.

Düzenli E Vitamini kullananlarda doz günde 1200 IU yi geçtiğinde immun sistemin baskılandığı gözlenmiştir. Oysaki düşük dozlar immun sistemi güçlendirici etki sağlamaktadır.

Günde 400 - 600 IU yağsız ve suda eriyen süksinat formu dolaşımı dolayısıyla dokuların kanlanmasını arttırıcı etki göstermesine karşın diğer yağlı formu tansiyon hastalarında tansiyonu yükseltici etki yapmaktadır[3].

2.8 E Vitamini Tedavide kullanımı

Günümüzde oldukça popülerdir. Özellikle yaşla beraber kullanımı da artmaktadır. Olumlu etkileri zaman içerisinde kesinlik kazandıkça belki kullanımı daha da artacaktır. Birçok kronik hastalığın ve yaşlanma olgusunun altında yatan nedenlere karşı olumlu etkileri olduğu bilinmektedir.

Çocuklarda en yaygın kullanımı düşük doğum tartılı bebeklerin alyuvarlarının erimeleri nedeniyle oluşacak kansızlığın önleme tedavisidir.

Ayrıca solunum sıkıntısı, gözlerde oluşabilecek retina hasarlarını engellemek amacıyla verilebilir.

Kistik fibroz denilen bir çocuk hastalığında kas zayıflığını önlemek için kullanılır.

Bazı kullanım nedenleri tartışmalıdır. Etkili olup olmadığı yönünde farklı fikirler vardır. Bunlar; yaşlanmayı geciktirmek, şeker hastalığının zararlı etkilerinden korunmak, sporcuların performansını arttırmak, kısırlık, düşükleri önlemek, katarakt oluşumunu ve prostat büyümesini engellemek, deri, kas ve eklem hastalıklarının tedavileri gibi konulardır. Beslenmede doymamış yağ asitlerinden zengin gıda alanların yanında E vitamini alması faydalıdır. Bu konuda mantıklı gözükken bazı kullanım alanları vardır.

Yaşlanma denilen olayın temelinde hücrelerin serbest radikallerin etkisi ile dejenere olmaları ve değişmeleri yatmaktadır. E Vitamini de serbest radikallerin bu zararlı etkilerini önlemektedir.

E Vitamini pıhtılaşmayı azaltmakta ve doku oksijenlenmesini arttırmaktadır. Bu özelliği ile kalp - damar sorunlarına olumlu etki yapabilir.

Pıhtılaşmayı azaltma ve trombositlerin yapışmasını engelleme özelliği damar sertliği (=atheroscleroz) sorunu için etkili olabilir.

A Vitamini ile beraber günde 200 - 300 IU dozlarında kolesterol ve yağ miktarlarını azaltmakta, tek başına HDL - Kolesterolu (iyi olan) arttırmaktadır.

Kadınlarda adetlerin yarattığı şikayetleri gidermede, baş ağrısı, sıcak basması, kuruluğa bağlı vaginal kaşıntı gibi menopoz yakınmalarında, doğum kontrol

haplarının yan etkilerini engellemede, meme kistlerinde yararlı olduğu yolunda yayımlar vardır.

Solunum sistemindeki hücrelerin zararını ve akciğer dokusunu antioksidan özelliği ile ozon ve nitrojen dioksit gibi hava kirliliğini yaratan maddeler ile sigaranın içersindeki zararlı maddelerin tahribatından koruyabilir.

Kanser tedavisinde kullanılan adriamycin ilacının kalbe zararlı etkilerini engelleyebilir. Zona hastalığında hem immun sistemi güçlendirmek hem de ağrıları azaltmak amacıyla kullanılabilir.

Lupus Eritematosus dahil olmak üzere bazı cilt hastalıklarında A vitamini ile birlikte kullanılmıştır.

2.9 *Gammarus pulex*'in sistematik özellikleri

Gammarus türleri, Crustacea'ların Malacostraca subclassisinde Amphipoda ordosunda yer alan hayvanlardır. Amphipoda; latince amphi: farklı ve yunanca pous: ayak kelimelerinden meydana gelir.

Amfipodların vücutları lateral yassılaşımıştır. Büyüklükleri 5- 20 mm. arasında değişir. Baş, toraksın ilk bir veya iki segmenti ile kaynaşımıştır. Sefalotoraksın arkasında, eklemliler birbiriine bağlanmış 6 veya 7 segment bulunur. Abdomende ise ekstremiteilerin yapısı ile ilgili olarak, her biri 3 segmentten oluşmuş iki kısım ayırt edilir. Karapaks yoktur. Göğüs üyelerinin eksopoditleri kaybolmuştur. Abdomen göğüsten şekil ve büyüklük bakımından belirgin olarak ayrılmaz [23]. Birinci ve ikinci anten iyi gelişmiştir, fakat eksopoditleri kaybolmuştur. Birinci antenlerde bir yan kamçı olduğu halde ikinci antenler daima bir kamçılıdır ve amfipodların çoğunda birincilerden daha uzundur. Mandibullar, kenarı keskin dişli bir çiğneme plağı ile genelde 3 parçalı olan bir palpten oluşmuştur. Birinci maksillerde de iki parçalı kısa bir palp bulunur. İkinci maksiller ortak bir kaide üzerine oturmuş iki enditten meydana gelir.

İlk göğüs üyesi maksillipede dönüşmüştür ve koksaları beraberce kaynaşmıştır. Diğer göğüs üyelerinin koksaları uzun plaklar şeklinde yassılaştığından, hayvanın yandan basılmış izlenimi daha da etkin bir görünüme sahip olur. İkinci ve üçüncü göğüs üyeleri kavrayıcı ve yakalayıcı üye şekline dönüşmüştür ve bu üyelere "Gnathopod" ismi de verilir. Son üç çift göğüs segmenti üyeleri ise arkaya doğru yönelmiştir [24]. Abdomen ekstremitelemi de şekilleri ve fonksiyonları bakımından iki gruba ayrılır. İlk gruptaki üç pleopod çiftinde iç ve dış kollar çok parçalıdır. Arkadaki üç çift ise (üropodlar) dik bir sap şeklinde, kolları da yalnız bir veya iki parçalı olur. Telson ya basit kalır ya da ortasından geçen bir yarıkla kısmen veya tamamen ikiye bölünür.

Mürekkep gözleri sapsızdır. Sindirim sistemi hepsinde tükürük bezleri ihtiva eder. Orta bağırsağa, tüp şeklinde iki veya dört orta bağırsak bezi açılır. Boşaltım organları anten bezleridir. Anten bezlerinin yanı sıra orta bağırsağın arka ucunda yer alan ve boşaltıma yaradıkları sanılan bir çift dorsal tüp vardır [25]. Kalp uzun bir boru şeklindedir. Toraksın 2 ile 7. segmentleri boyunca uzanır ve genelde 3 ostium ihtiva eder. Ön ve arka uçlarından çıkan iki aorttan başka yanlarından da arterler ayrılır.

Solunum organları toraks ekstremitelemi koksalarının iç yüzeyine yapışmış vesikül veya lamel şeklindeki solungaçlardır. Bazı tatlı su familyalarında (Gammaridler hariç) solungaçlar koksal değil, sternum kısmındadır. Abdomendeki pleopodların çarpma hareketleriyle yarattıkları su akımı ile solungaçların devamlı taze su ile temas etmeleri sağlanır. Oyuk ve tüplerde yaşayan amphipodlarda (Corophioidae ve Ampeliscoidea) ise su akımını pleopodlardan çok antenler gerçekleştirir. Oksijen kanda hemosiyanin ile taşınır. Su dışında yaşamalarına rağmen Tallitridae'nin de solungaçları vardır [25].

Gonadlar tüp şeklinde ve çifttir. Erkek eşeyssel açıklığı son göğüs segmentinin sternumu üzerindeki papilin ucundan dışarıya açılır. Yumurta borusu ise 5. göğüs koksasının üzerinden açılır. Dişi hayvanlarda solungaçların yanlarından ayrılan kaşık şeklindeki epipodit eklentileri ile vücut arasında bir kuluçka boşluğu meydana gelir. Yumurtalar kuluçka boşluğuna bırakılır. Yılda bir defa yumurta meydana getirme eğilimi vardır.

Gelişme kuluçka boşluğu içinde geçer. Yumurtadan çıkan yavrular ana hatları ve ekstremite sayısı bakımından ergin hayvanlara benzerler. Yalnız anten parçalarının sayısı ve ekstremitelerinin şekilleri erginlerinden farklıdır [23,24].

Çoğu denizel, bir kısmı tatlı su birazı da yarı veya tam karasal formdur. Sularda yaşayanların bir kısmı pelajiktir, bir kısımda dip hayvanıdır. Gammaridler genelde dip sakinleridirler. Fakat pek çok üyesi yüzebilirler.

Yüzmek için itici kuvvet pleopodlardan ve onların yanı sıra üropodlardan sağlanır. Yüzme dışında hareket, göğüs üyelerinin ve kısmen pleopodların hareketi ile yürüme şeklinde de gerçekleştirilir. Dipteki bu hızlı yürüme sırasında hayvan genelde vücudunun bir tarafı üzerinde yan yan hareket eder [23,25]. Pek çok amfipod kazarak ve bazı çamur kil ve kum tanelerini 4. ve 5. torasik uzantılardaki bezlerden salgılanan salgı ile birleştirerek tüp ve tüneller meydana getirirler. Tünel kazmada genelde torasik üyeler kullanılır. Kazılan materyal geriye doğru süpürülür (Gammaridlerin yaptığı gibi) ve üropodları ile çıkarılır. Pek çok kazıcı tür sürekli veya geçici oyuk, tünel veya tüp oluştururlar. Kazılar yatay, dikey ve iki açıklığı olan U şeklinde de olabilir. Bazı türler bitki gövdeleri üzerinde tüp yaparlar [25].

Amfipodların çoğu parçalanmış hayvansal ve bitkisel maddelerle (detritus) beslenir. Çok az bir kısmı yırtıcıdır. Özellikle ikinci antenler kullanılarak dipteki çamur içersinden bulunan artık maddeler gnathopodlar yardımı ile toplanır. Bazen ağız kısımları besini direkt alır. Bazı kazıcı formlar ise kum taneleri üzerinden detritus ve diatomları kazıyarak alırlar. Gammaridlerde günlük detritus tüketimi gençlerde vücut ağırlığının %100'ünün üzerinde, erişkinlerde ise %60 civarında olabilir. Bazı amphipodlar ise detritus süzerek beslenirler. Bazıları bu süzme işlemini gnathopodlarındaki seta filtresi ile gerçekleştirir, bazıları ise suyu birinci ve ikinci antenleri ile süzerek beslenirler.

Yırtıcı beslenme yaygın değildir. Çoğu küçük hayvanları da detritusla birlikte yemelerine rağmen yırtıcı değildirler. Yırtıcılara örnek olarak, pelajik Hyperidler , Eusiridler ve Caprellidler verilebilir. Parazitizm de yaygın değildir. Bir iki balık ektoparaziti (Lafystius sp., Opisa sp.) vardır. Cyamidae familyası

türleri balinalar üzerinde parazitlerdir [25].

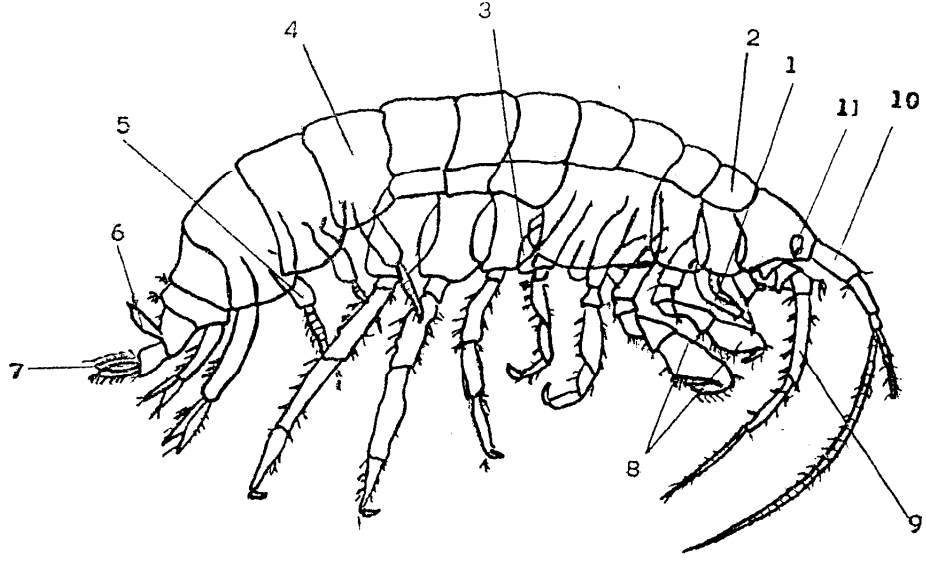
2.10 *Gammarus pulex*'in fizyolojik özellikleri

Toraksın birinci segmenti başla kaynaşmıştır. Maksillipedler palpli ve yedi parçalıdır. Göğüs üyelerinin koksaları iyi gelişmiştir. Solungaçlar toraksın 5. veya 6. ekstremitte çiftinde yer alır. Dişilerde 4 çift kuluçka kesesi bulunur. Abdomende 3 çift yüzme bacağı ve genellikle 3 çiftte sıçrama bacağı vardır.

Tanımlanmış 4700 türü olan en büyük Amfipod alttakımı Gammaridea' nın belli başlı denizel familyaları; Phoxocephalidae, Haustoriidae, Platyschnopidae, Oedicerotidae, Lysianassidae, Eusiridae, Corophioidae, Ampeliscidae, Pardaliscidae, Melitidae, Pontogeneiidae, Stenothoidae' dir. Temel tatlısu familyaları; Gammaridae, Crangonyctidae, Niphargidae, Callioiidae, Pontoporiidae'dir [26].

Familya: Gammaridae

Vücut ince yapılıdır. Birinci antenlerde genelde bir yan kamçı bulunur. İkinci antenler birincilerle hemen hemen aynı uzunluktadır. Toraks üyelerinin ilk 4 çiftinde kaide parçaları çok geniş olur. Abdomenin son ekstremitte çifti diğerleriyle aynı uzunlukta ya da onlardan daha uzundur. Hareketleri genelde yüzme şeklindedir ancak dipte zaman zaman yan yan yürüyerek hareket ettikleri de olur [23]. Akarsularda yaşayan *Gammarus* cinsine ait türler zemin hayvanıdır. Hızlı akan derelerde yaşayan türler, zemindeki küçük taşların altlarında, kum içersinde bulunurlar. Su bitkilerinin fazla olduğu daha az akıntılı dere ve çaylarda ise *Gammarus*lar bitkilerin dip kısımlarında daha yoğun bulunurlar. Detritusla beslenen akarsu *Gammaridleri* daha büyük su omurgasızların ve balıkların beslenmelerinde önemli bir yere sahiptir. Tatlı sularda sık rastlanılan *Gammarus* türlerine; *G. pulex*, *G. duebeni*, *G. lacustris* , *G. locusta* örnek verilebilir. Şekil 1.4. de bir *Gammarus* sp. örneğinin genel vücut yapısı görülmektedir.

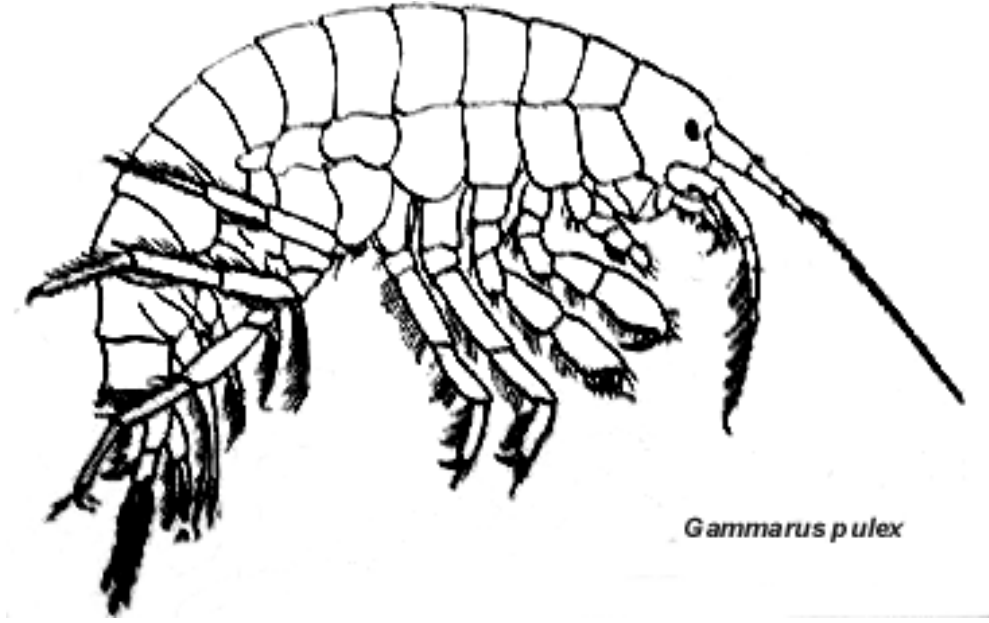


Şekil 1.4. : Bir gammarus sp'nin genel vücut yapısı;

I. maxiliped 2. II. toraks segmenti, 3. solungaç, 4. I. abdomen segmenti, 5. III. pleopod, 6. telson, 7. üropod, 8. gnathopodlar, 9. II. anten, 10. I. anten, II. mürekkep göz

Gammarus pulex'in hepatopankreatik sekasının çift haldeki kanalları karın tarafından ön ve orta mide arasından çıkar. Bağ dokuyla çevrili zayıf kaslarla bağlanır[28]. Bu epitel hücrelerinin Sindirimi kolaylaştırdığı bilinmektedir [29]. Buna ek olarak bu glandular epitel yiyeceklerle hepatopankreasın lümeni arasında fiziksel bariyer oluşturur [29].

Gammarus pulex'in hepatopankreatik miyoepitelin morfolojik araştırmasında kas fibrillerinin uzunluğu 12 µm den oluştuğu ve ince düzensiz Z çizgileri mitokondriden oluştuğu görülmüştür. Longitudinal miyofilamentler daire şeklinde filamentlerin merkezinde yerleşiktir. Bu özellik diğer decapoda ve isopodalarda da benzerdir [30].



Şekil 1.5. : *Gammarus pulex* spp nin genel görüntüsü

3.MATERYAL VE YÖNTEM

3.1 Materyal

3.1.1 Deneylerde kullanılan canlıların sağlanması ve laboratuvarda yetiştirilmesi

Porsuk nehrinden (Eskişehir, Regülatör civarı) toplanan *Gammarus pulex*'ler DNA Analiz laboratuvarına getirilmiştir. 30 cm boyundaki akvaryuma konulup 1 hafta laboratuvar koşullarına alıştırmıştır. Akvaryumda hava akımı sağlanmıştır. Sağlıklı olan örnekler deneye alınmıştır. Deneylerin başlangıcından itibaren canlıların hareketli kısımları her gün izlenerek, aktif olmayanlar ayrılıp deneye alınmamıştır. Akvaryumda haftada bir kez organik materyalle beslenen canlılar 6-8 hafta yaşayabilmektedir.

3.1.2 Kullanılan kimyasal maddeler

Talyum çözeltisi, talyum asetat ($C_2H_3O_2Tl$) şeklinde saf suda çözülerek kullanılmıştır. Verilen E vitamini ise ticari olarak satın alınan evilgen marka ampul formunda hayvanlara uygulanmıştır.

Glutaraldehit:	Dokuların fiksasyonunda kullanılmıştır.
Sodyum potasyum fosfat tampon:	Dokuların fiksasyonu için kullanılmıştır.
Osmium tetroksit:	Dokuların ikinci fiksasyonu için kullanılmıştır.
Ethanol:	Doku takibinde kullanılmıştır.
Propilen oksit:	Doku takibinde kullanılmıştır.
Araldit resin:	Blokların gömülmesinde kullanılmıştır.
Toluidin blue:	Dokuların yarı ince kesitlerinin boyanmasında kullanılmıştır.
Potasyum fosfat:	Tampon hazırlanmasında kullanılmıştır.
Sodyum fosfat:	Tampon hazırlanmasında kullanılmıştır.
Uranil asetat:	Dokuların ince kesitlerinin boyanmasında kullanılmıştır.

3.1.3 Elektron mikroskobunda kullanılan kimyasal maddelerin içerikleri ve Hazırlanması

Sodyum fosfat tamponun hazırlanması:

0,1 M sodyum fosfat tamponu hazırlamak için 0,13 M Na_2HPO_4 ile 0,08 M KH_2PO_4 82,5 ml distile su da çözülmüştür. Na_2HPO_4 den 72 ml KH_2PO_4 den ise 11 ml karıştırılarak PH metre de PH 7,4 oluncaya kadar karıştırılmıştır.

Osmium tetroksit'in hazırlanması:

% 2 lik osmium tetroksit hazırlamak için siyah bir şişeye 5 ml distile su konulduktan sonra osmium tetroksit ampülü kırılır ve 24 saat beklenir.

Araldit hazırlanması:

Araldit CY 212	0,02 M (20 ml)
DDSA	0,02 M (20 ml)
BDMA	0,0006 M (0.6ml)
Dibutilfitalat	0,001 M (1 ml)

Maddeler yukarıdaki sırayla hava kabarcıkları yok oluncaya kadar oda sıcaklığında karıştırılır.

Toluidin Blue boyasının hazırlanması:

Toluidin bLue	0,001 M (1 gr)
Borax	0,001 M (1 gr)
Distile su	0,01 M (100 ml)

Toluidin blue boyası yukarıda verilen maddelerin sırasıyla karıştırılmasıyla ısıtıcı tablada hazırlanır.

Kurşun nitrat hazırlanması:

Kurşun nitrat	0,001 M (1.33 gr)
Sodyum sitrat	0,001 M (1.79 gr)
Distile su	0,03 M (30 ml)

Yukarıda verilen maddeler karıştırılarak 50 ml lik beherde yavaş bir şekilde 30 dakika süre ile karıştırılır. Daha sonra bu karışım 50 ml distile su ile tamamlanır.

Uranil asetat hazırlanması:

Uranil asetat etil alkolde çözünür ve yanına NaOH tabletlerden konulur ve 2 saat beklenilir.

3.2. Metot

3.2.1. Talyum asetatın *gammarus pulex* için EC₅₀ değerinin saptanması

EC₅₀ değerinin saptanması için kontrol grubunun yanı sıra farklı talyum asetat [TlC₂H₃O₂] konsantrasyonlarının uygulandığı 6 adet deney grubu oluşturulmuştur. Talyum asetatın stok solüsyonu 1mg/10 ml stok çözeltisi hazırlanmış 0,1- 0,6 ml/lit konsantrasyon dağılım arasındaki dozlar uygulanmıştır. Her grup için 10'ar canlı kullanılmıştır. Talyum asetat uygulanmasından (EPA akut toksisite testi) 96 saat sonra canlılar ve ölenler sayılmış ve EPA Prohibit Analiz Programı kullanılarak EC₅₀ değeri saptanmıştır [31]. EC₅₀ değeri sudaki madde konsantrasyonunun bir grup deney hayvanının %50 si üzerinde biyolojik etki yapması beklenen bir dozdur.

3.2.2 Uygulanan E vitamini dozları

Gammarus pulex' lere 2ml,1ml, 0,5ml ve 0,25 ml E vitamini uygulanmış ama uygulanan dozları aşırı gelmesi üzerine dozlar azaltılarak 0,25 ml, 0,125 ml, 0,0625 ml ve 0,03125 ml olarak uygulanmıştır.

3.3. Transmisyon elektron mikroskopunda İnce Yapı Analizi

Gammarus pulex'in ince yapı analizi için transmisyon elektron mikroskobu kullanılarak talyum asetat'ın hepatopankreas seka hücrelerinde yapmış olduğu hasarlar tespit edilmiştir.

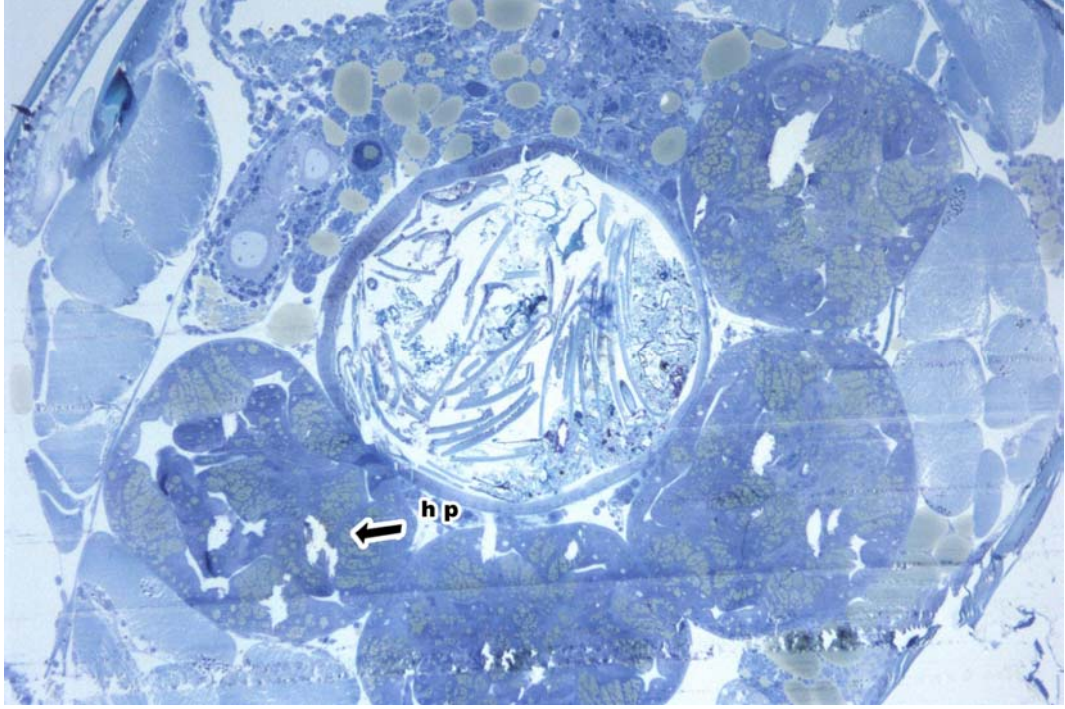
3.3.1. Fiksasyon

Deney grubu *Gammarus pulex*'ler 96 saat boyunca 1000 ml'lik kavanozların içine konulan çeşme suyu ile talyum asetat solüsyonuna (EC₅₀) maruz bırakılmıştır.

Diseksiyon pH: 7.4 0,1 M Fosfat tamponu ile %4'lük Glutaraldehit (pH: 7,2) solüsyonu içerisinde gerçekleştirilmiştir. Diseksiyon işleminin kolaylıkla gerçekleştirilebilmesi için tüm ekstremiteler kopartılmıştır. Daha sonra hayvan dorsoventral olarak tutularak küçük parçalara ayrılmıştır. %4'lük Glutaraldehit içerisinde 24 saat boyunca ilk fiksasyon yapılmıştır. Daha sonra 3 kere 15 ' er dakikada bir değiştirilmek suretiyle PH: 7,4 0,1M Fosfat tamponu ile yıkanmıştır. İkinci fiksasyon Osmium tetroksitle içerisinde 2 saat rotatorda döndürülerek oda sıcaklığında yapılmıştır. Doku daha sonra 3 kez 15'er kez fosfat tamponunda yıkanmıştır. Dehidratasyon işleminde +4 C' de %50, %70, %90 lik etil alkol 2 şer kez 15'er dakika; %96, %100'lık etil alkol de 2'şer kez 30 dakika olarak uygulanmıştır. Daha sonra dokular propilen oksitte 2 kez 30'ar dakika, rotatorda 1:1 oranındaki propilen oksit ve araldit karışımı 2 saat bekletilmiştir. Dokular saf araldit içerisinde rotatorda bir gece bekletildikten sonra gömme işlemi yapılmıştır. Polimerizasyon işlemi 2 gün boyunca 60°C lik etüvde gerçekleştirilmiştir.

3.3.2. Yarı ince kesitler

Bloklar trimlendikten sonra Leica ultramikrotomda 800 µ'luk yarı ince kesitler alınmıştır. Alınan ince kesitler petri kabına konulan toluidin blue boyası içinde 7 dakika bekletilmiştir. Daha sonra temiz petri kabına konulan distile su içinde 2 -3 dakika bekletildikten sonra fazla boyadan arındırılmıştır. Lamlara alınarak kuruduktan sonra ışık mikroskopunda incelenecek bölge seçimi yapılmıştır. (Şekil 2.1.)



Şekil 2.1. : *Gammarus pulex*'in Hepatopankreatik seka hücresinin (hp) yarı ince kesiti (1000nm)x40

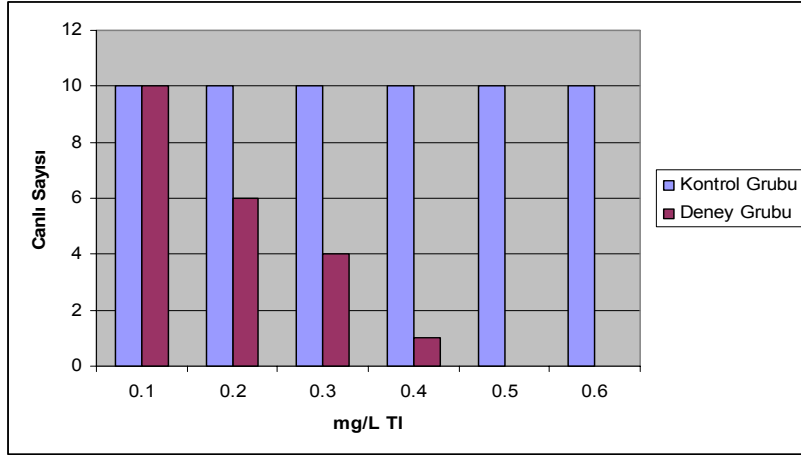
3.3.3. İnce kesitler

70- 100 µm olan ince kesitler 300 mesh bakır gridler üzerine alınıp %2'lik uranil asetat'ta 1 saat süresince boyanmıştır. Gridler Fosfat tamponu ile yıkandıktan sonra 15 dakika kurşun asetat ile muamele edilmiştir. Kurşun asetat ile muamelesinden sonra tekrar yıkanmıştır. Fotoğraf çekimleri Tecnai G2 Spirit Bio Twin Transmission Elektron Mikroskobunda 120 kV da gerçekleştirilmiştir.

4.BULGULAR

4.1 Talyum asetat'ın *Gammarus pulex* için EC_{50} Değeri

EC_{50} değerinin saptanması için talyum asetatın 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6 mg/lit'lik konsantrasyonlarda, 96 saat sonunda canlı kalan *Gammarus pulex* sayılarının uygulanan dozlara göre dağılımı şekil 2.2. de verilmiştir. EPA Probit Analiz Programının uygulanması sonucu *Gammarus pulex* için talyum asetatın EC_{50} değeri 0,240 µl olarak bulunmuştur.

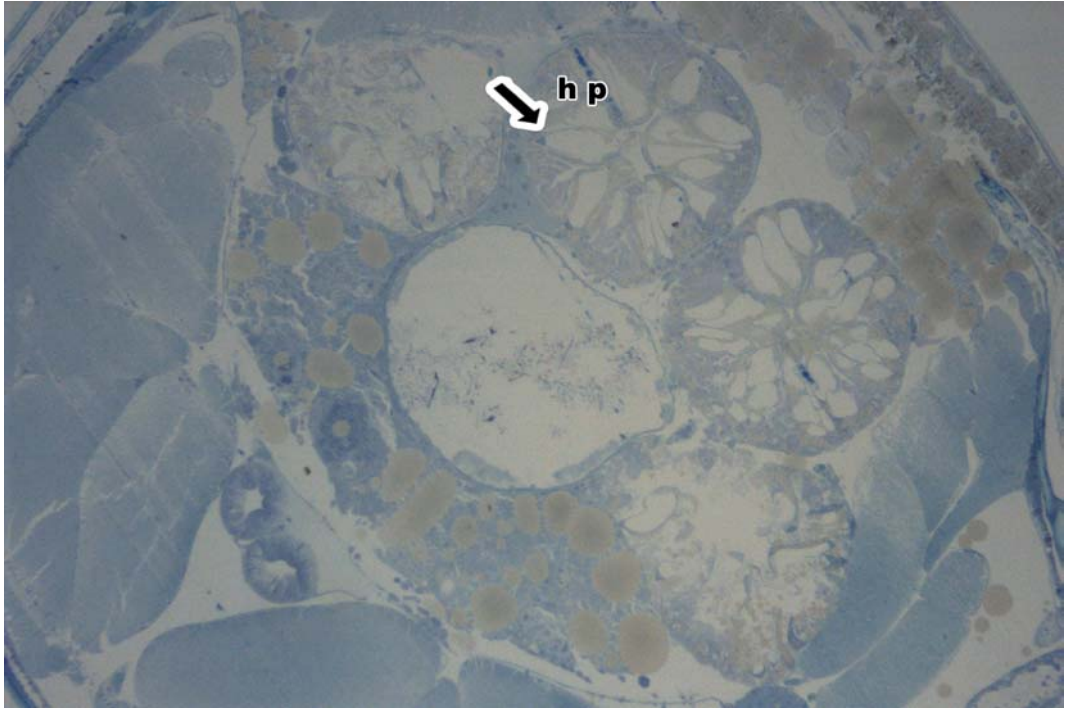


Şekil 2.2. : *Gammarus pulex*' de Talyum asetat için EC_{50} değerinin saptanması ile ilgili doz arama sonuçları

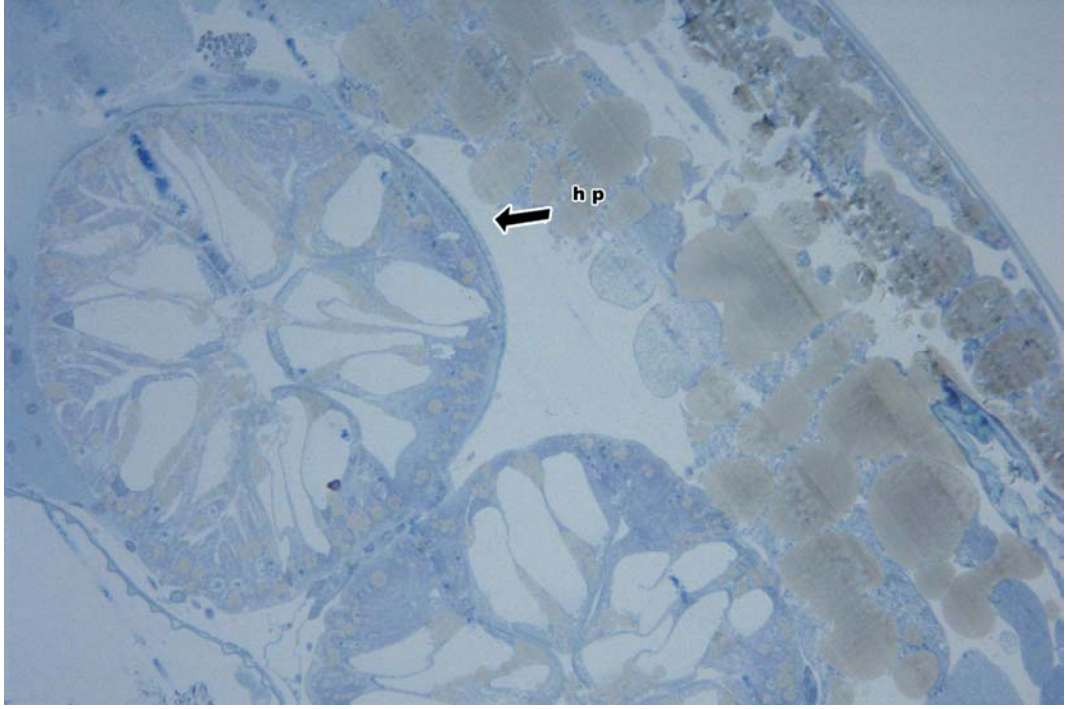
4.2. Uygulanan E vitamini dozları

Talyum asetatın toksik etkisini tolere edebilmesi için 0,25 ml, 0,125 ml, 0,0625ml, 0,03125 ml E vitamini EC_{50} değeri 0,240 μ l olan talyum ile birlikte deney hayvanlara verilmiş 96 saat beklenilmiştir.

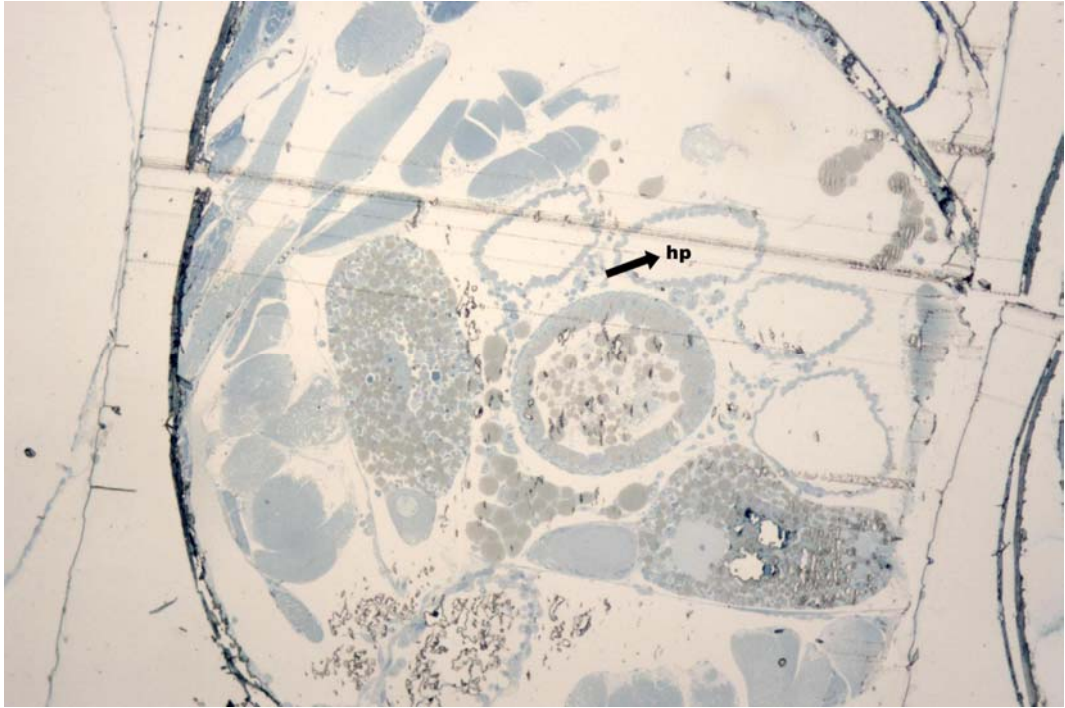
4.3. Işık mikroskopunda görülen histolojik değişimler



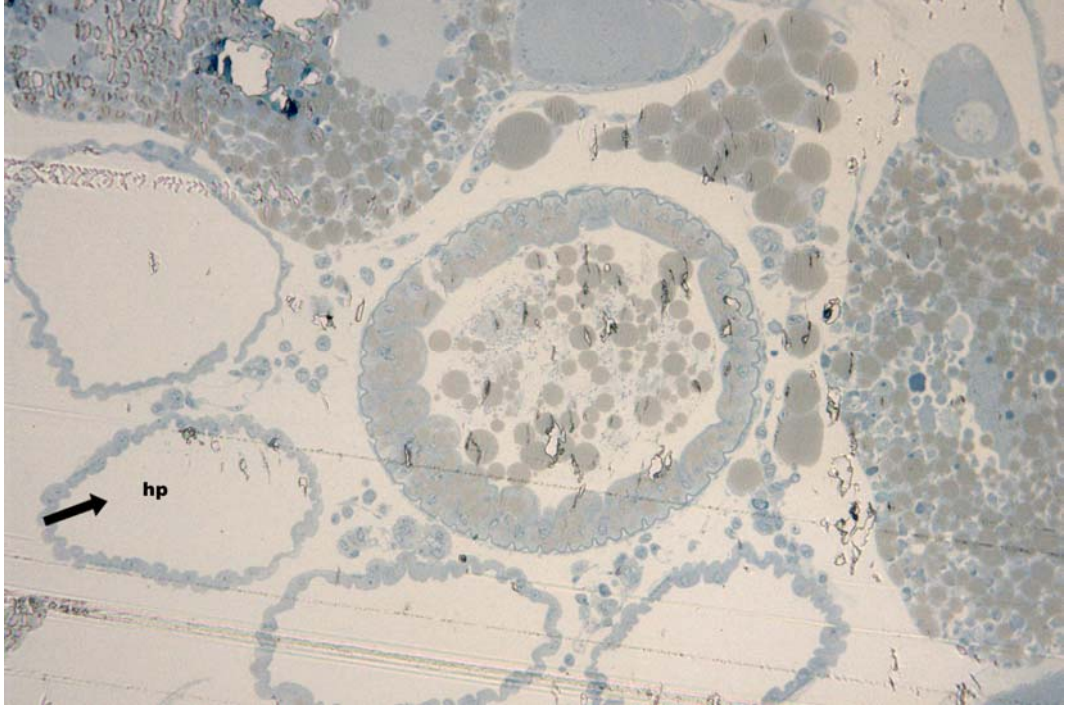
Şekil 3.1. : Kontrol organizması hepatopankreatik seka hücreleri (hp) x 40



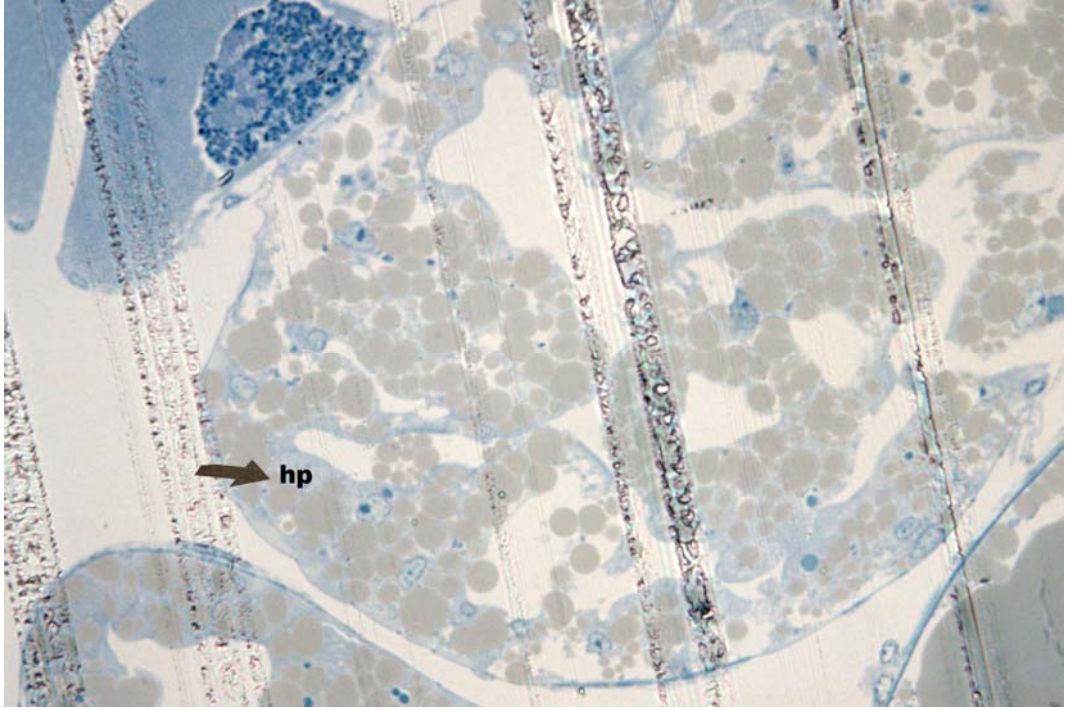
Şekil 3.2. : Kontrol organizması hepatopankreatik seka hücreleri (hp) x 40



Şekil 3.3 : EC₅₀ değeri 0,240 µl talyum verilmiş *Gammarus pulex*'in hepatopankreatik seka hücreleri (hp) x 40

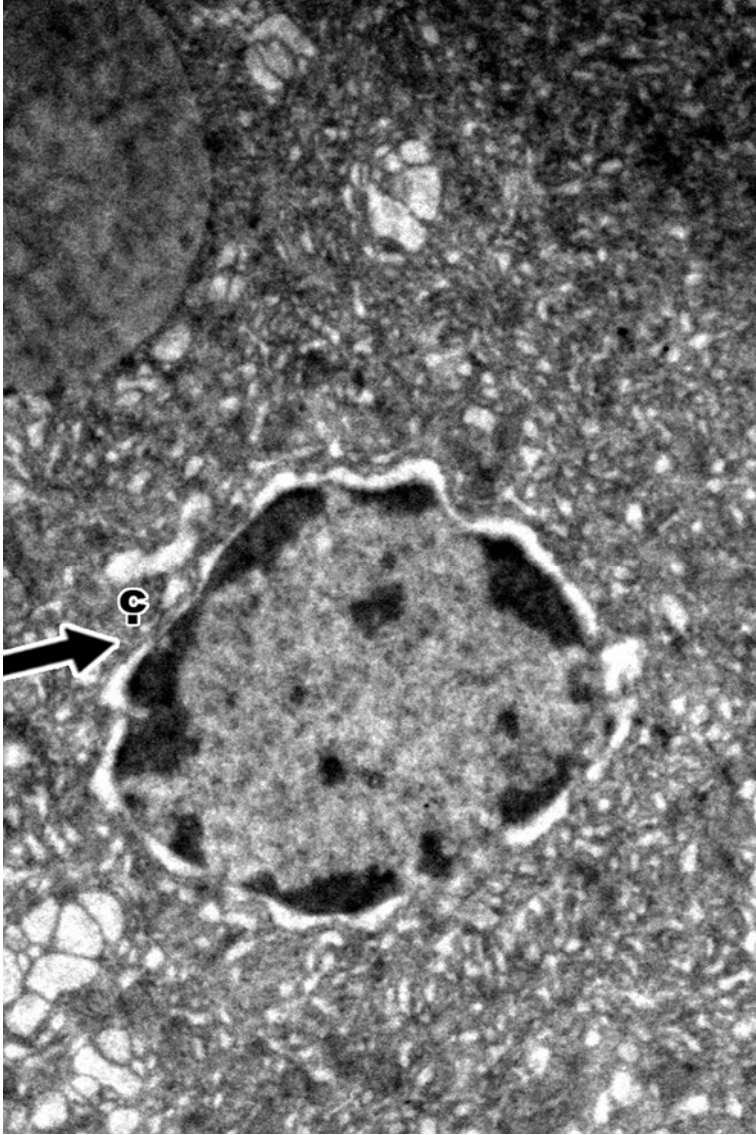


Şekil 3.4.: EC₅₀ değeri 0,240 µl talyum ile birlikte 0,25 ml E vitamini verilen *Gammarus pulex*' lerde hepatopankretik seka hücreleri (hp)

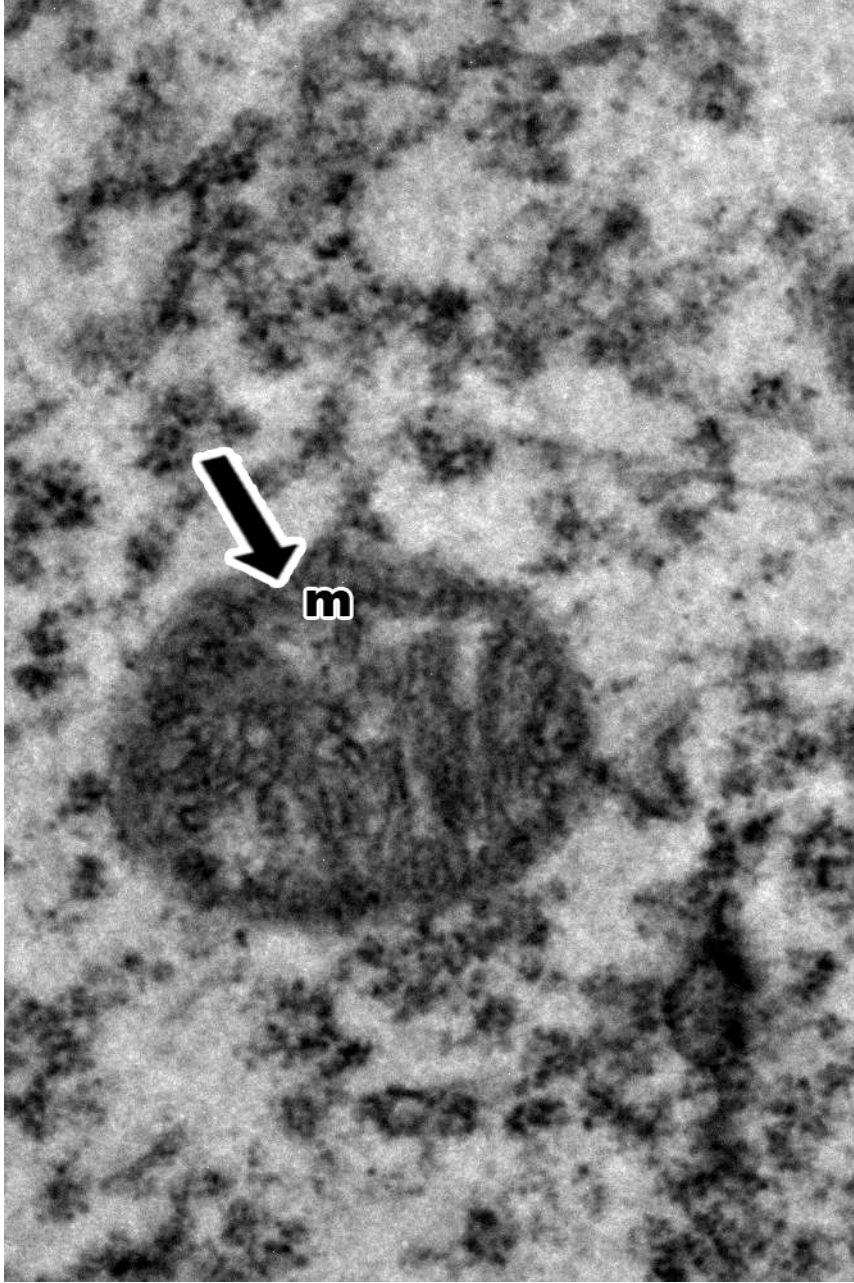


Şekil 3.5.: EC₅₀ değeri 0,240 µl talyum ile birlikte 0,03125 ml E vitamini verilen *Gammarus pulex* lerde hepatopankretik seka hücreleri (hp)

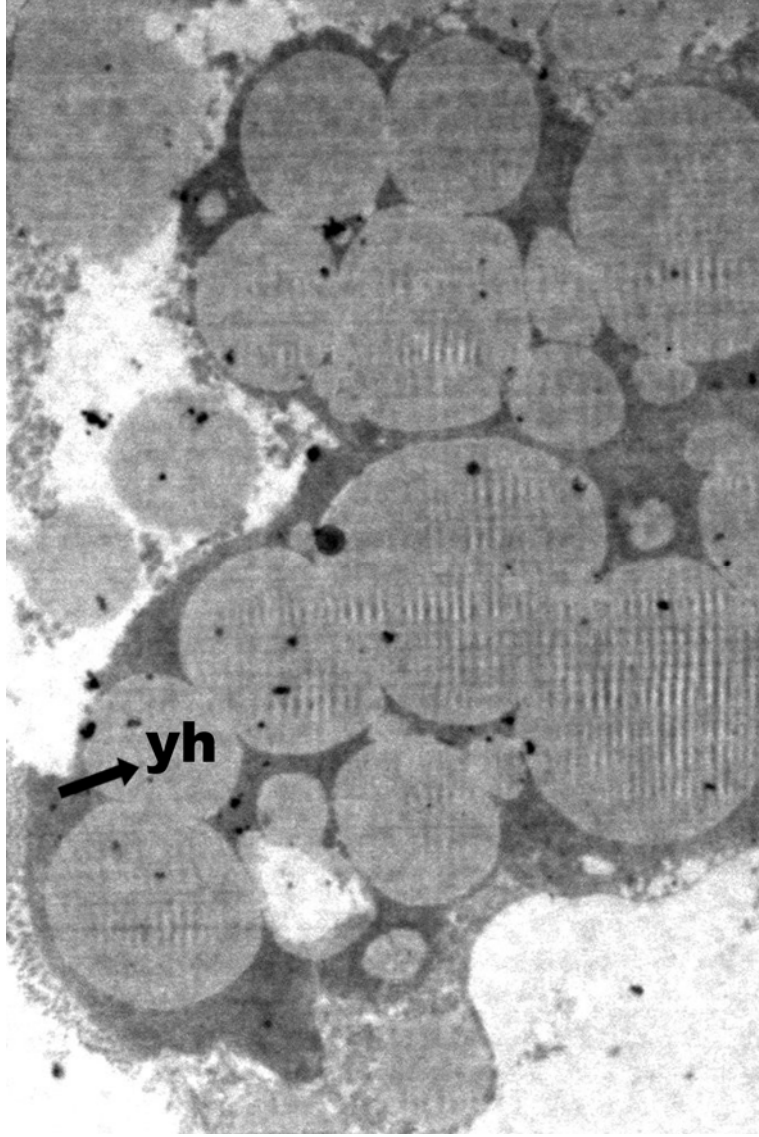
4.4. Elektron mikroskopunda görülen histolojik değişimler



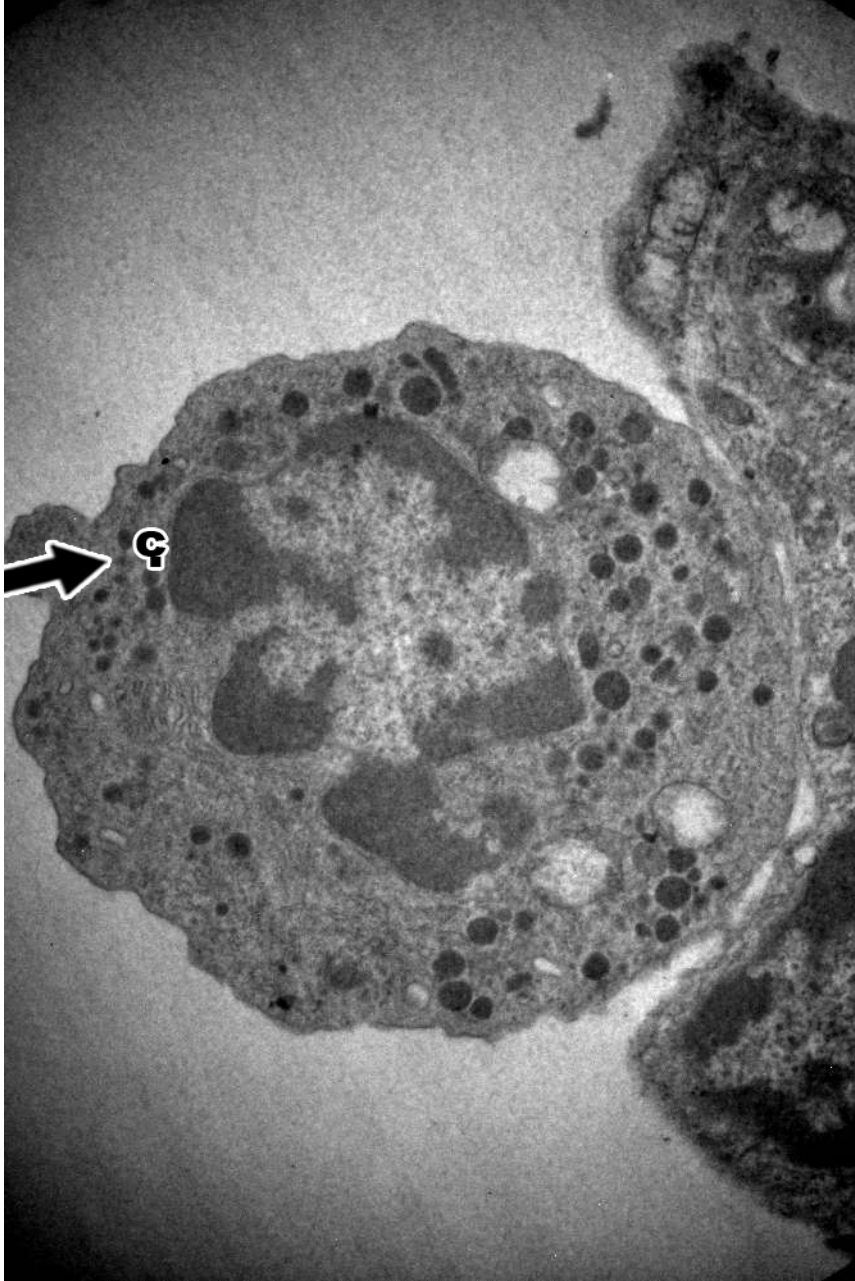
Şekil 3.6. : Kontrol organizması: Çekirdek (ç) x 12000



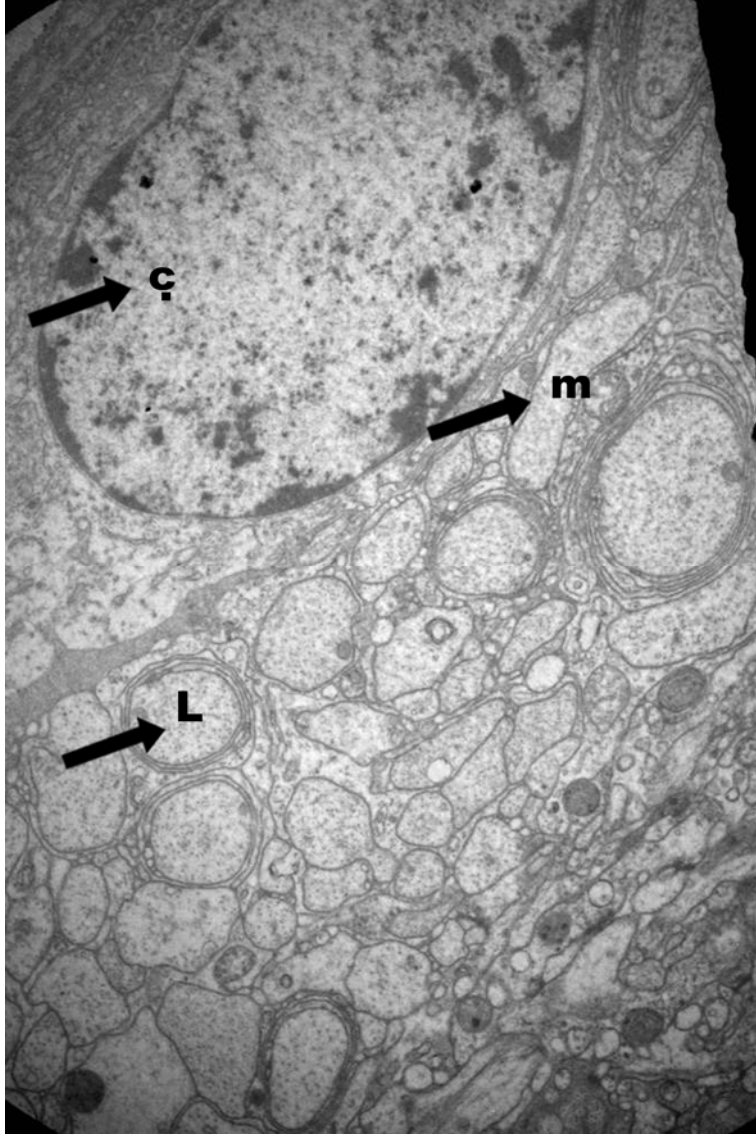
Şekil 3.7. : Kontrol organizması: mitokondri (m) x 8000



Şekil 3.8. : Kontrol organizması : yağ hücreleri (yh) x4000

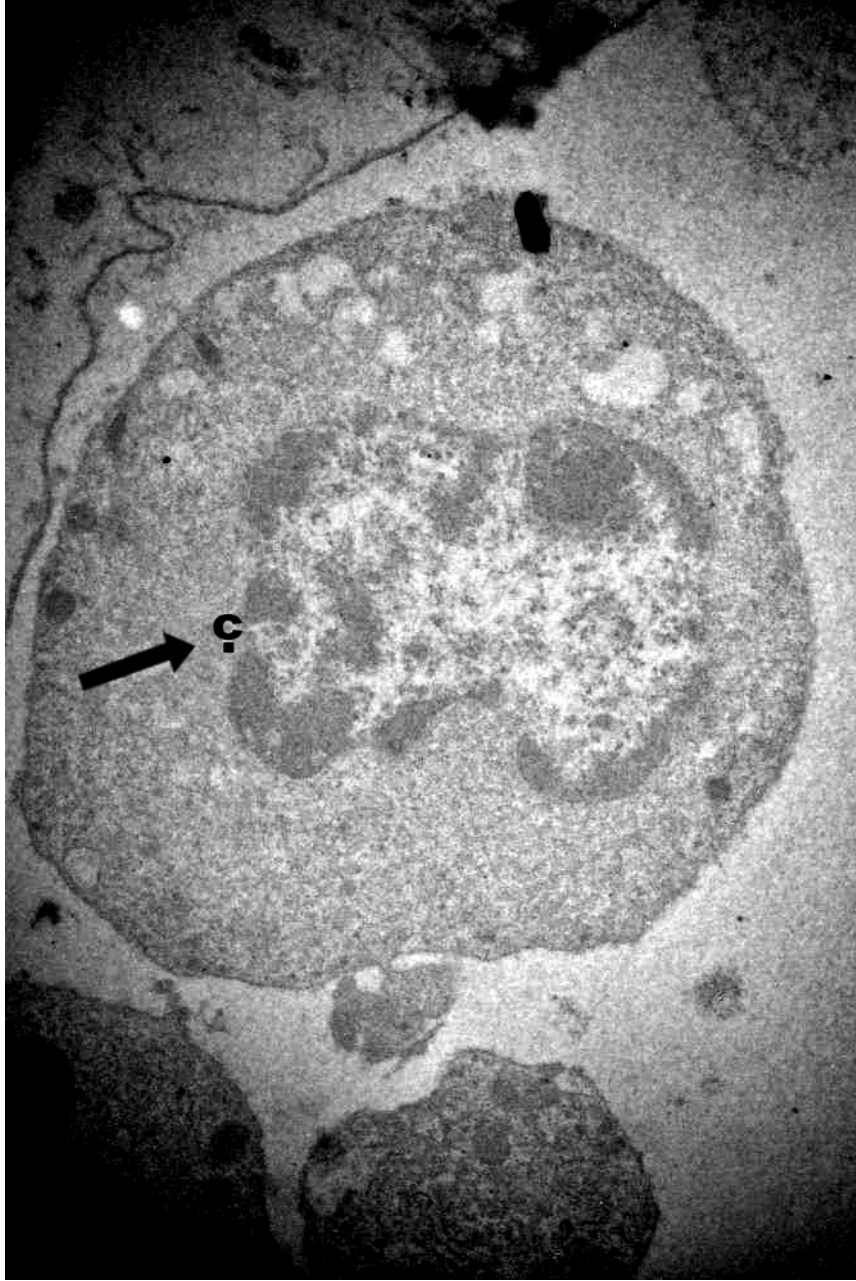


Şekil 3.9. : EC_{50} değeri 0,240 μ l olan talyum asetatı maruz bırakılan *Gammarus pulex*' in hepatopankreası'ndaki hücre çekirdeğindeki (ç) parçalanmış kromatinler x 8200



Şekil 3.10. : EC₅₀ değeri 0,240 µl olan talyum asetata maruz bırakılan *Gammarus pulex*'in hepatopankreası' ndaki hücre çekirdeği (c) , lamelli body (l) , mitokondri (m) x 8200

Gammarus pulex'lerin hepatopankreatik seka hücrelerinin çekirdeklerinde ve özellikle çekirdek zarında bozulma, yağ hücrelerinde artış ve mitokondrilerin kristalların da bozulmalar görülmüştür.



Şekil 3.11. : EC₅₀ değeri 0,240 µl olan talyum ile birlikte 0,125 ml E vitamini verilen *Gammarus pulex* çekirdek (ç) x 9900

EC₅₀ değeri 0,240 µl olan talyuma maruz bırakılan *gammarus pulex*'lerin hepatopankreas seka hücreleriyle karşılaştırdığımızda çekirdek ve mitokondrilerin de görülen parçalanmalar azalmış, yağ hücrelerinin sayısında da azalma görülmüştür. Sonuç olarak E vitamininin, talyum asetatın toksik etkisini gözle görülür bir şekilde azalttığı gözlenmiştir.

5.TARTIŞMA-SONUÇ

Amphipoda grubu toksik kimyasallara karşı akut toksisitesi testlerinde kullanılan en hassas gruplardan birisidir. *Gammarus*'ların su ortamlarında bol bulunmaları ve kolaylıkla toplanarak yaşatılabilmeleri büyük bir avantaj sağlamaktadır. *Gammarus* spp.'lar toksik maddelere, balıklardan daha duyarlı organizmalardır. Çok çeşitli toksik maddelere olan hassasiyetlerinden, çabuk üreyebilmelerinden, çok sayıda toplanabilmelerinden dolayı bu cinsin toksikolojik çalışmalarındaki kullanımı giderek artmaktadır[33]. Daha önce yapılan çalışmalar da göstermiştir ki; tatlı su Gammaridleri çok çeşitli kimyasallara karşı duyarlıdır[18].

Bizde bu çalışmamızda talyum asetatın *gammarus pulex*' lerin hepatopankreas seka hücrelerinde meydana getirdiği hücresel değişikliklerle birlikte E vitamininin iyileştirici etkisini elektron mikroskobunda inceleyerek göstermeye çalıştık.

Böcek ilacı olarak kullanılan talyum I sülfat , 1960'lardan beri yerini başka maddelere bırakmıştır. Talyum I bileşiklerinin birkaç sınırlı kullanım alanı vardır. Kızılötesi ışınları geçiren talyum iyodür(TII) ve talyum bromür (TIBr) kristalleri karışımından kızılötesi optik sistemlerinde mercek, pencere ve prizma olarak yararlanılır. Talyum sülfür çok duyarlı fotoelektrik pillerin, oksisülfür ise kızılötesi ışığa duyarlı fotosellerin temel bileşenidir.

Çözülebilir talyum bileşikleri zehirlidir ve metalin kendisi nemli hava ya da deriyle temas ettiğinde bu tür zehirli bileşiklere dönüşür. Talyum zehirlenmesinin semptomları insanlarda saç dökülmesi, mide bulantısı, kusma, karın ağrısı, taşikardi ve kalpte aritmik bozukluklar, kalp durması [13] ya da nefes alamamaktan dolayı ölüme sonuçlanır[14]. Ayrıca nörotoksin olduğundan dolayı zehirlenmeden 1-2 gün sonra titreme adale bozukluğu, göz kapağında sarkma görülür[4].

E Vitamini yağda eriyen vitaminlerdendir. Alfa, beta, gama ve delta tokoferolleri içerir. Hücrelerin genel sağlığını korumak gibi özellikleri vardır. En iyi antioksidandır. Hücre zarı ve taşıyıcı moleküllerin lipid kısmını stabilize ederek hücreyi serbest radikaller, ağır metaller, zehirli bileşikler, ilaç ve radyasyonun zararlı etkilerinden korur. Trombosit denilen kandaki bir tür pıhtılaşma hücrelerinin birbirlerine yapışmalarını engeller. Timus bezini ve alyuvarları korur. Virütik hastalıklara karşı bağışıklık sistemini geliştirir. Böbrek üstü bezi ve beyinden salınan hormonları dayanıklı kılar. Yaşlanmaya karşı koruyucudur. Serbest radikallerin dokular, deri ve kan damarlarında oluşturduğu dejeneratif etkiyi, yaşlanmayla ortaya çıkan hafıza kayıplarını ve serbest radikallerin katarakt yapıcı etkilerini önleyici özelliğindedir. Retina gelişimi için gereklidir. E vitaminin önemli bir nörolojik rolü vardır ve sinirlerle, kasların dejenerasyonunu önler. Çok güçlü bir oksidan olan E vitamini, hücre membran fosfolipidlerinde bulunan poliansatüre yağ asitlerinin serbest radikal etkisinden koruyan ilk savunma hattını oluşturur. Bir molekül alfa tokoferol 100 molekül PUFA'nın peroksidasyonunu engelleyebilir. E vitamini, superoksit ve hidroksil radikallerini singlet oksijeni lipid peroksi radikalini ve diğer radikal örneklerini indirir. Glutasyon peroksidaz ile E vitamini serbest radikallere karşı birbirlerini tamamlayıcı etki gösterirler. E vitamini radikali ile polimerizasyon reaksiyonlarını sonlandıran bir antioksidan olarak bilinir. Çünkü fonksiyonları, lipid peroksi radikallerini sonlandırır ve böylece lipid peroksidasyon zincir reaksiyonlarının oluşmasını engeller.

Tokoferolün antioksidan etkisi yüksek oksijen konsantrasyonların da etkilidir. E vitamini okside olduktan sonra ve parçalanmadan önce, askorbik asid ve glutasyon tarafından yeniden indirgenebilmektedir.

Bu reaksiyon, bu maddelerin konsantrasyonlarına veya indirgenmiş formlarını devam ettiren enzimlere bağlıdır. Bu yolla, tokoferol radikali bir vitamin E radikal redüktaz aktivitesiyle E vitamininin doğal şekline dönüştürebilir. Solunum gazı ile dışarı atılan pentan miktarı, lipid peroksidasyonunun bir göstergesidir. Diyetle verilen E vitaminin, solunum gazındaki pentan miktarını azalttığı tespit edilmiştir [3].

E vitamini Gıda endüstrisinde yağ ve yağlı gıdaların oksitlenmesi ile acı tat almasının engellenmesi amacı ile de kullanılırlar.

Hücrelerin genel sağlığını korumak gibi özellikleri de vardır. Hücrelerdeki yağların oksijen ile bozulması sonucu bazı pigmentler oluşur (yaşlılık lekeleri). E vitamini bunu engelleyebilir. Doymamış yağ asitlerinin oksidasyonunu azaltarak hücre zarı oluşumuna yardımcı olur.

Lipid zarlarının ve doymamış yağ asitlerinin oksijenin etkisi ile yıkılmasını önler. Serbest radikaller denen zararlı maddelerin dokuları tahrip etmesini önler. Bu özelliği ile damar sertliği, kalp hastalıkları, hipertansiyon, eklem iltihabı, yaşlanma sorunları üzerine de olumlu etkileri olmaktadır.

Enzim sistemleri ve DNA molekülünün dayanıklılığını artırır. Deri, karaciğer, meme ve testis gibi oksidasyona hassas dokuları ve hücreleri korur. Akciğeri havanın içerisindeki zararlı maddelerden korur. Oksidasyondan etkilenen A Vitamini biyolojik aktivitesine yardımcı olur.

Talyum asetat ile yaptığımız çalışmalarda bu kimyasalın *Gammarus pulex*'in dokularında meydana getirdiği hücresel değişiklikler gözlenmiştir. Daha önce yapılan çalışmalarda talyumun EC₅₀ değeri ratlar da 0.8 mg/kg olarak bulunmuştur[34]. Bizim yaptığımız çalışmada EPA akut toksisite testini kullanarak [33] 96 saat süren deneylerde canlılar ve ölenler sayılmıştır ve EPA Prohibit Analiz Programı kullanarak EC₅₀ değeri 0,240 µl olarak bulunmuştur.

Kontrol grubunun hepatopankreatik seka hücrelerinin çekirdeğinde, mitokondrilerin de bozulma ve herhangi bir hücresel ve metabolizmasında değişiklikler gözlenmemiştir. Çekirdek ve çekirdek zarı bütünlüğünü korumakta, mitokondri, endoplazmik retikulum ve zarlı yapılar normaldir. Kristaller normal görünümündedirler. Normal metabolizmadaki yağ hücrelerinin düzeyleri de azdır.

EC₅₀ değeri 0,240 µl olan talyum asetatı 96 saat boyunca maruz bırakılan *Gammarus pulex*'lerin hepatopankreatik seka hücrelerinin çekirdeklerinde ve özellikle çekirdek zarında bozulma, yağ hücrelerinin artış ve mitokondrilerin kristalların da bozulmalar ayrıca apoptosise giden pek çok hücre gözlenmiştir.

Çalışmamızın ikinci kısmında talyum (EC₅₀ : 0,240 µl) ile birlikte E vitamini dozları uygulanmıştır. Uygulanan E vitamini dozları sırasıyla 0,25 ml, 0,125 ml, 0,0625ml ve 0,03125 ml 96 saat boyunca uygulanmıştır.

EC₅₀ değeri 0,240 µl olan talyum ile birlikte E vitamini dozları da uygulanmıştır. Sadece talyum uyguladığımız *gammarus pulex*'lerin hepatopankreas seka hücreleriyle karşılaştırdığımızda çekirdek ve mitokondrilerinde görülen parçalanmalar azalmış, yağ hücrelerinin sayısında da azalma görülmüştür. Sonuç olarak E vitamininin, talyum asetatın toksik etkisini gözle görülür bir şekilde azalttığı gözlenmiştir.

Çalışmamızda amaçladığımız talyum asetatın toksik etkisinin bir radikal süpürücü enzim olan E vitamini ile beraber uygulandığında mikroskobik olarak hücrelince yapı değişikliklerin olumlu etkilendiğini gözledik. Ancak kesin olarak etkinin saptanabilmesi için ileride daha detaylı biyokimyasal analizlere ihtiyaç duyulmaktadır.

KAYNAKLAR

- [1] www.turktox.org.tr/webtmp/toplum/gun_tok.doc
- [2] <http://www.lenntech.com/periodic-chart.htm>
- [3] <http://www.populermedikal.com/evit.asp>
- [4] K.M Leung and V.E.C Ooi, Studies on thallium toxicity,its tissues distribution and histopathological effects in rat ,Chemosphere, **41(1-2)**, 155-159, July 2000
- [5] www.healty.net
- [6] Fathi Habashi “Handbook of Extractive Metallurgy”, **II**, WILEY-VCH, Germany, 1997
- [7] www.inchem.org
- [8] Baldwin DR, Marshall WJ. “Heavy Metal Poisoning and Its Laboratory Investigation” , Annals of Clinical Biochemistry 267-300, 1999
- [9] www.webelements.com
- [10] Fathi Habashi, “Handbook of Extractive Metallurgy”, **III**, WILEY-VCH, Germany, 1997
- [11] www.portfolio.mvm.ed.ac.uk
- [12] <http://physchem.ox.ac.uk>
- [13] Anderson O., Thallium poisoning-toxin elimination and therapy in three cases. Journal of Toxicology-Clinical Toxicology, **20**, 451-463, 1983
- [14] ATSDR, “Toxicological Profile for Thallium”.US Department of health and Human Services, Public Health Service,Agency for Toxic Substances and Disease Registry,Atlanta, Haziran 1992
- [15] Cheng-Hang Lana and Tser-Sheng Lin, acute toxicity of trivalent thallium compounds to Daphnia manga, Ecotoxicology and Enviromental safety, **61(3)**, 432-435, July 2005
- [16] Aras Namık ,Kimya Temel Kavramlar, 330-331,1999
- [17] Schweiz Med Wochenschr,Nuclear Medical Methods for the detection of coronary disease,Pubmed, **109(43)**, 1631-1636,1979
- [18] Thomson C.,Dent J.,Saxby P(1988),Effects of thallium poisoning on intellectual function, British journal of psychiatry , **153**, 396-399,1988
- [19] Arthur J.W. ATM SIP 715.Amerikan Society for Testing and Materials. 98-108,1980

- [20] S.Gebert, B.Eichenberger.,H.P.Pfirter,C.Wenk,İnfluence of different dietary vitamin E and C content and oxidative stability in various tissues and stored m. Longissimus dorsi of growing pigs,Meat science, **73(2)**, 362-367 June 2006
- [21] M.Romeu-Nadal,s.Morera-pons,A.I.Castellote,M.C.Lopez-Sabater, Determination of tocopherols in human milk by a direct high-performance liquid chromatographic method with UV-vis detection and comparison with evaporative light scattering detection,Journal of Chromatography A., **1114(1)**, 132-137, 5 may 2006
- [22] Akkuş İdris, Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri, 68-73, 2005
- [23] Caglar M., Omurgasız Hayvanlar, Anatomi ve Sistemik II. Kısım 2.baskı, İstanbul Üniversitesi Fen Fakültesi Basım evi,İst,1-400,1974
- [24] Demirsoy A., Yaşamın Temel Kuralları (Omurgasızlar), Cilt 2 s1-186 Hacettepe Üniversitesi yayınları,1982
- [25] Barnes R. D., İnvertebrata zoology, Holt-Saunders İnternational Editions,Fourth Edition, 1-1089 Tokyo,1982
- [26] Şirin Ümit, Porsuk çayı'nda Gammarus (amphipoda) Türlerinin yaşam olanaklarının araştırılması,Yüksek Lisans Tezi, Osmangazi Üniv. Fen Bilimleri Ens.,Eskişehir,1999
- [27] www.tkd.org.tr/cg/004/toplum.htm
- [28] Martin A.L.,The Histochemistry of the moulting cycle in *Gammarus*, Journal Zoology, **147**, 185-200, 1965
- [29] Agrawal, V.P.,Feeding appendages and the digestive system of *gammarus marus pulex*. Acta Zool. **46**, 67-82,1965
- [30] Weeks,J.M..Copper rich glanules in the ventral caeca of talitrid amphipods(Crustacea; Amphipoda:Talitridae).Ophelia , **36(2)**, 119-133 ,1982
- [31] Schultz,T.W. The ultrastructure of the hepatopancreatic caeca of *Gammarus minus*.J.Morphol. **149**, 383-400,1976
- [32] Macek, K.J., Buxton, K.S., Derr, S.K., Choronic toxicity of Lindane to selected aquatic invertebrates and fishes. EPA/600/3-76-046, US Environmental Protection Agency,1976
- [33] Kutlu M.,Duzen A.,Baycu C.,Özata A., A transmission electron microscope of the effect investigation of lead acetate on the hepatopancreatic ceca of *Gammarus Pulex*, Proje No:97/17 Anadolu Üniversitesi, 2001

- [34] Sonia Galvan-Arzate, Argelia Martinez, Ethel Medina, Abel Santamaria and Camilo Rios Subchronic administration of sublethal doses of thallium to rats: effects on distribution and lipid peroxidation in brain regions, *Toxicology Letters*, **116(1-2)**, 37-43, 1999