



**ÇEVRESEL KİRLETİCİ MİKROPLASTİKLERİN ZEBRA
BALIKLARINDA (*DANIO RERIO*) GENOTOKSİK VE OKSİDATİF
HASAR ÜZERİNE ETKİLERİNİN BELİRLENMESİ**

Sevda ÖNDER

**DOKTORA TEZİ
ÇEVRE BİLİMLERİ ANA BİLİM DALI**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

OCAK 2023

ETİK BEYAN

Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu,

bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

Sevda ÖNDER

23/01/2023

ÇEVRESEL KİRLLETİCİ MİKROPLASTİKLERİN ZEBRA BALIKLARINDA (*DANIO RERIO*) GENOTOKSİK VE OKSİDATİF HASAR ÜZERİNE ETKİLERİNİN

BELİRLENMESİ

(Doktora Tezi)

Sevda ÖNDER

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Ocak 2023

ÖZET

Küresel su ortamlarında yaygın olarak bulunan mikroplastiklerin farklı sucul organizmalar üzerinde çok çeşitli zararlı etkileri tespit edilmiştir. Bu çalışmada, polistren (PS) ve polietilen (PE) mikroplastiklerinin zebra balıklarında (*Danio rerio*, Hamilton, 1822) DNA hasarı (8-OHdG), ileri oksidasyon protein ürünleri (AOPP), malondialdehit (MDA) ve glutatyon (GSH) düzeyleri ile değerlendirilmiştir. Model organizma olarak kullanılan yetişkin zebra balıkları (*Danio rerio*) 96 saat ve 21 gün süre ile her iki mikroplastığa 1 ve 10 mg/L konsantrasyonlarında maruz bırakılmışlardır. Deney sonucunda MDA düzeylerinin 1mg/L PS ve PE'ye 96 saat maruziyet sonunda kontrol grubuna göre anlamlı olarak arttığı bulunmuştur ($p=0,008$, $p=0,041$). 10 mg/L PS ve PE maruziyet gruplarında ise 96 saat sonunda kontrol grubuna göre görülen artış anlamlı bulunmamıştır ($p=0,137$, $p=0,395$). GSH düzeylerinin 1 ve 10 mg/L PE'ye 96 saat maruziyet sonunda kontrol grubuna göre anlamlı olarak arttığı bulunmuştur ($p=0,004$, $p=0,004$). 1 ve 10 mg/L PS'ye 21 gün maruziyet sonunda da deney gruplarında kontrol grubuna göre anlamlı azalma bulunmuştur ($p=0,033$, $p=0,045$). AOPP düzeylerinin 1 ve 10 mg/L PS 96 saat maruziyet grupları kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı olarak azalmış bulunmuştur ($p=0,008$, $p=0,000$). Ayrıca 1 mg/L PE ve 10 mg/L PE gruplarında kontrole göre görülen azalma ve artma anlamlı bulunmamıştır ($p=0,236$, $p=0,364$). AOPP değerlerinin 1 ve 10 mg/L PE ve PS gruplarında 21 gün maruziyet sonunda kontrol grubuna göre görülen artış anlamlı değildir ($p=0,124$, $p=0,090$, $p=0,055$, $p=0,282$, sırasıyla). 8-OHdG düzeyleri 10 mg/L PS grubunda 96 saat maruziyet sonunda kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı olarak azalmış bulunmuştur ($p=0,030$). 1 mg/L PS, 1 mg/L PE ve 10 mg/L PE gruplarında ise kontrol grubuna göre izlenen azalma anlamlı bulunmamıştır ($p=0,882$, $p=0,608$, $p=0,263$, sırasıyla). 8-OHdG düzeyleri 21 gün maruziyet sonunda ise 1 mg/L PS, 10 mg/L PS gruplarında kontrol grubuna göre artmış ve 10 mg/L PE grubunda kontrol grubuna göre azalmış olsa da anlamlı bulunmamıştır ($p=0,199$, $p=0,131$, $p=0,850$, sırasıyla). 1 mg/L PE grubunda ise kontrol grubuna göre görülen artış anlamlı bulunmuştur ($p=0,028$). Sonuç olarak, 1 ve 10 mg/L PE ve PS mikroplastiklerinin zebra balıklarında uygulanan konsantrasyon ve sürelerde oksidan-antioksidan sistemi etkilediği ve DNA hasarına neden olduğu düşünülmektedir.

Bilim Kodu : 90308

Anahtar Kelimeler : Mikroplastikler, zebra balığı (*Danio rerio*), oksidatif hasar, DNA hasarı, polietilen, polistiren

Sayfa Adedi : 81

Danışman : Prof. Dr. Aylin SEPİCİ DİNÇEL

İkinci Danışman : Prof. Dr. A. Çağlan GÜNAL

DETERMINATION OF EFFECTS GENOTOXIC AND OKSIDATIVE DAMAGE OF
ENVIRONMENTAL POLLUTANT MICROPLASTICS ON ZEBRA FISH (*DANIO*
RERIO)

(Ph. D. Thesis)

Sevda ÖNDER

GAZİ UNIVERSITY

GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES

January 2023

ABSTRACT

Microplastics which are prevalent in global aquatic environments have been established a wide variety of harmful effects on different aquatic organisms. In this study, the effects of polystyrene (PS) and polyethylene (PE) microplastics on DNA damage (8-OHdG), advanced oxidation protein products (AOPP), malondialdehyde (MDA) and glutathione (GSH) in zebrafish (*Danio rerio*, Hamilton, 1822) were evaluated. Adult zebrafish (*Danio rerio*) used as a model organism were exposed to both microplastics at concentrations of 1 and 10 mg/L for 96 hours and 21 days. As a result of the study, it was found that MDA levels increased significantly only after 96 hours of exposure to 1mg/L PS and PE compared to the control group ($p=0.008$, $p=0.041$ respectively). GSH levels were significantly increased compared to the control group after 96 hours of exposure to 1 and 10 mg/L PE ($p=0.004$, $p=0.004$). Also after 21 days of exposure to 1 and 10 mg/L PS, a significant decrease was found in the experimental groups compared to the control group ($p=0.033$, $p=0.045$). AOPP levels were significantly decreased in 1 and 10 mg/L PS 96 hour of exposure groups compared to the control group ($p=0.008$, $p=0.001$). In addition, the decrease and increase observed in the 1 mg/L PE and 10 mg/L PE groups compared to the control were not significant ($p=0.236$, $p=0.364$). The increase in AOPP values in the 1 and 10 mg/L PE and PS groups after 21 days of exposure was not significant compared to the control group ($p=0.124$, $p=0.090$, $p=0.055$, $p=0.282$, respectively). 8-OHdG levels were found to be significantly decreased in the 10 mg/L PS group after 96 hours of exposure compared to the control group ($p=0.030$). The decrease observed in the 1 mg/L PS, 1 mg/L PE and 10 mg/L PE groups was not significant compared to the control group ($p=0.882$, $p=0.608$, $p=0.263$, respectively). Although 8-OHdG levels increased in the 1 mg/L PS and 10 mg/L PS groups compared to the control group after 21 days of exposure, and decreased in the 10 mg/L PE group compared to the control group, it was not found significant ($p=0.199$, $p=0.131$, $p=0.850$, respectively). In the 1 mg/L PE group, the increase in the control group was found to be significant ($p=0.028$). As a result, it is thought that 1 and 10 mg/L PE and PS microplastics affect the oxidant antioxidant system and cause DNA damage at the concentrations and times applied in zebrafish.

Science Code : 90308

Key Words : Microplastics, zebra fish (*Danio rerio*), oxidative damage, DNA damage, polyethylene, polystyrene

Page Number : 81

Supervisor : Prof. Dr. Aylin SEPİCİ DİNÇEL

Co-Supervisor : Prof. Dr. A. Çağlan GÜNAL

TEŞEKKÜR

Öncelikle bu süreçte yaşadığım tüm dünya ve ülkemizin etkilendiği çok önemli bir olayı da belirtmek istedim. Dünya Sağlık Örgütü tarafından pandemi olarak ilan edilen kovid-19 salgını, tez çalışmamın şekillendiği aşamada 2020 yılı Mart ayından itibaren ülkemizi de etkilemiştir. Bu süreçlerde çalışmamın oluşturulması ve yürütülmesinde, engin bilgi ve deneyimleri ile yol gösteren, gülyüzü ile desteğini ve hoşgörüsünü hep hissettiren, laboratuvarı gerekli çalışma ortamını sağlayarak destekleyen danışmanım çok kıymetli hocam Prof. Dr. Aylin SEPİCİ DİNÇEL'e, çalışmamın oluşturulması ve yürütülmesinde, engin bilgi ve deneyimleri ile yol gösteren, gülyüzü ile desteğini ve hoşgörüsünü hep hissettiren, akademik katkılarının yanı sıra laboratuvar imkanları açısından da yardımlarını ve desteğini esirgemeyen ikinci danışmanım çok kıymetli hocam Prof. Dr. A. Çağlan GÜNAL' a, doktora tez çalışmam sürecinde desteklerini esirgemeyen tez izleme komitesi değerli hocalarım, Prof. Dr. Belda ERKMEN ve Dr. Öğr. Üyesi Feriha YILDIRIM'a, analiz süreçlerinde bana yardımcı olan Çevre Bilimleri ABD doktora öğrencileri Gülsüm KOÇAK ve Donald Romeric Yehouenou TESSI'ye, tezimi yazma sürecimde benden desteğini esirgemeyen ve istatistik analizlerde yardımcı olan Arş. Gör. Dr. Tuba GÜNDÜZ'e (Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi), çalışmamızın yürütülebilmesine olanak sağladıkları için Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi' ne, teşekkürlerimi sunarım. Amaçlarımı gerçekleştirmek için çıktığım her yolda beni anlayan, destekleyen, yanımda olarak bu yolları daha kolaylıkla kat etmemi sağlayan çok kıymetli annem Rukiye ÖNDER ve babam Abbas ÖNDER'e her zaman minnettar olacağım. Bu çalışma Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından FDK-2022-7588 kodu ile desteklenmiştir.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	iv
ABSTRACT.....	v
TEŞEKKÜR.....	vi
İÇİNDEKİLER	vii
ÇİZELGELERİN LİSTESİ.....	ix
ŞEKİLLERİN LİSTESİ.....	x
RESİMLERİN LİSTESİ	xi
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xii
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	5
2.1. Plastiklerin Genel Özellikleri ve Mikroplastikler	5
2.2. Mikroplastiklerin Karasal Ekosistemdeki Genel Etkileri	8
2.3. Mikroplastiklerin Sucul Ekosistemdeki Genel Etkileri.....	10
2.3.1 Mikroplastiklerin ve nanoplastiklerin balık beyinleri üzerindeki etkileri .	14
2.3.2. Balıklarda mikro ve nano plastiklerin nörotoksitesi	16
2.3.3. Mikroplastiklerin ve nanoplastiklerin balık solungaçları üzerindeki etkileri.....	19
2.3.4. Mikroplastiklerin ve nanoplastiklerin balık sindirim sistemi üzerindeki etkileri.....	20
2.3.5. Mikroplastiklerin ve nanoplastiklerin balık karaciğeri üzerindeki etkileri.....	21
2.3.6. Mikroplastiklerin ve nanoplastiklerin balık böbrekleri üzerindeki etkileri.....	22
2.3.7. Mikroplastiklerin ve nanoplastiklerin balıklarda kan parametreleri üzerindeki etkileri.....	23
2.4. Ülkemizde Mevcut Durum ve Politikalar	24
2.6. Oksidatif Stres ve DNA Hasarı	31

	Sayfa
2.6.1. Malondialdehit (MDA).....	33
2.6.2. Glutasyon (GSH).....	34
2.6.3. İleri oksidasyon protein ürünleri (AOPP).....	35
2.7. Mikroplastiklerin İnsan Sağlığı Üzerine Olası Etkileri.....	36
3. MATERYAL VE METOT	39
3.1. Zebra Balığı Temini ve Aklimasyon.....	39
3.2. Deney Akvaryumlarının Hazırlanması ve Mikroplastik Dozlanması	40
3.3. Deney Yöntemi	42
3.4. Mikroplastik Maruziyet Sonrasında Yapılan Analizler	43
3.5. Biyokimya Doku Analizleri için Homojenat Hazırlanması	45
3.5.1. Doku MDA düzeylerinin ölçümü	46
3.5.2. Doku GSH düzeylerinin ölçümü	48
3.5.3. Doku AOPP düzeylerinin ölçümü	49
3.5.4. Protein miktar tayini	51
3.5.5. DNA hasar tayini	52
3.5.6. DNA ekstraksiyonu	52
3.6. Veri Analizi	53
4. BULGULAR	55
4.1. Doku MDA Düzeylerinin Ölçüm Değerleri.....	55
4.2. Doku GSH Düzeylerinin Ölçüm Değerleri	57
4.3. Doku AOPP Düzeylerinin Ölçüm Değerleri.....	59
4.4. DNA Hasar Tayini (8-OHdG) Ölçüm Değerleri.....	62
5. TARTIŞMA, SONUÇ VE ÖNERİLER	67
KAYNAKLAR	73
ÖZGEÇMİŞ	81

ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 2.1. En yaygın kullanılan plastikler ve sınıflandırılması	6
Çizelge 2.2. Radikal ve radikal olmayan özellik gösteren bazı reaktif oksijen türleri ...	32
Çizelge 3.1. Akvaryum numaraları ve mikropplastik uygulaması	40
Çizelge 3.2. Akvaryum suyu ölçüm değerleri	42
Çizelge 3.3. MDA, GSH ve AOPP tayini için doku homojenizasyon çözeltisi	45
Çizelge 4.1. Maruziyet süresine göre MDA değerleri	56
Çizelge 4.2. Maruziyet süresine göre GSH değerleri	58
Çizelge 4.3. Maruziyet süresine göre AOPP değerleri	60
Çizelge 4.4. Maruziyet süresine göre 8-OHdG ölçüm değerleri	63
Çizelge 4.5. Nanodropta ölçülen DNA miktarları	66
Çizelge 4.6. MDA, GSH, AOPP ve 8-OHdG değerleri.....	66

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 1.1. Plastik üretim miktarları	2
Şekil 2.1. Okyanuslardaki plastik adaları	12
Şekil 2.2. Mikroplastiklerin sucul organizmalar ile etkileşimleri.....	13
Şekil 2.3. Nanoplastiklerle yapılan ekotoksikolojik çalışmalarda kullanılan biyolojik kategorilerin yüzdesi.....	14
Şekil 2.4. Zebra balığının sistematik sınıflandırılması.....	29
Şekil 2.5. Zebra balığı gelişim evreleri ve ergin zebra balığı	29
Şekil 2.6. Zebra balığında biyoakümülyasyon ve etkileri (Bhagat ve diğerleri, 2020)	30
Şekil 2.7. MDA kimyasal formülü (Halliwell ve Gutteridge, 2007)	34
Şekil 2.8. Redükte glutatyon formülü (Halliwell ve Gutteridge 2007).....	35
Şekil 2.9. Nanoplastiklerin insan vücuduna giriş yolları (Teles ve diğerleri, 2020)	36
Şekil 3.1. AOPP standart eğrisi.....	50
Şekil 4.1. Polistiren (PS) ve polietilenin (PE) 96 saat maruziyet MDA değerleri.....	55
Şekil 4.2. Polistiren (PS) ve polietilenin (PE) 21 gün maruziyet MDA değerleri	56
Şekil 4.1. Polistiren (PS) ve polietilenin (PE) 96 saat maruziyet GSH değerleri	57
Şekil 4.2. Polistiren (PS) ve polietilenin (PE) 21 gün maruziyet GSH değerleri	58
Şekil 4.5. Polistiren (PS) ve polietilenin (PE) 96 saat maruziyet AOPP değerleri.....	59
Şekil 4.6. Polistiren (PS) ve polietilenin (PE) 21 gün maruziyet AOPP değerleri	60
Şekil 4.3. Polistiren (PS) ve polietilenin (PE) 96 saat maruziyet 8-OHdG değerleri	62
Şekil 4.4. Polistiren (PS) ve polietilenin (PE) 21 gün maruziyet 8-OHdG değerleri	64

RESİMLERİN LİSTESİ

Resim	Sayfa
Resim 1.1. Kuzeybatı Hawaii Adaları'nda okyanus plastiği ile çevrili kuş	8
Resim 2.2. Okyanuslardaki hayalet ağlar ve deniz kaplumbağası.....	10
Resim 2.3. Endonezya'nın Sumbawa adası açıklarındaki bir deniz atı	11
Resim 3.1. Adaptasyon akvaryumu	39
Resim 3.2. Deney düzeneği	40
Resim 3.3. Polietilen (PE-10 mg/L ve 1 mg/L)	42
Resim 3.4. Zebra balıklarından numune alınması	44
Resim 3.5. 96 saat süre ile 1 mg/L PE maruz kalan zebra balıklarının iç organlarında görülen mikroplastik parçaları	45
Resim 3.6. Doku tartımı ve ependorf tüplere konulması	46
Resim 3.7. Vortex, kaynar su banyosu ve soğutma	47
Resim 3.8. Kromojen ve spektrometre cihazı.....	48
Resim 3.9. Tampon kimyasalları ve ependorf içinde hazırlanan örnekler	49
Resim 3.10. Numunelerin mikropalakaya alınması ve Bradford çözeltisinin eklenmesi...	51
Resim 3.11. Çalkalayıcıda inkübasyon ve plate okuyucu.....	52
Resim 3.12. Nanodrop ve DNA ölçüm grafiği	53

SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış simgeler ve kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

Simgeler	Açıklamalar
cm³	Santimetreküp
°C	Santigrat
g	Gram
ng	Nanogram
kg	Kilogram
L	Litre
nm	Nanometre
mg	Miligram
mm	Milimetre
µm	Mikrometre
m	Metre
µmol	Mikromol
µL	Mikrolitre
rpm	Dakikadaki devir sayısı

Kısaltmalar	Açıklamalar
AB	Avrupa Birliği
AChE	Asetilkolinesteraz
AOPP	İleri oksidasyon protein ürünleri
Au	Altın
AST	Aspartat aminotransferaz
ALT	Aleninaminotransferaz
ALP	Alkalenfosfataz
BBB	Beyin kanı bariyeri
BPA	Bisfenol A
CAT	Katalaz

Kısaltmalar**Açıklamalar**

ChE	Kolinesteraz
DNA	Deoksiribonükleik asit
DNTB	Dinitro-ditiobenzoik asit
DSÇD	Deniz stratejisi direktifi
EPA	ABD Çevre Koruma Ajansı
GI	Sindirim sistemi
GPx	Glutasyon peroksidaz
GSH	Glutasyon
Hb	Hemoglobin
HCH	Hekzaklorosikloheksan
H₂O₂	Hidrojen peroksit
HDPE	Yüksek yoğunluklu polietilen
Hct	Hematokrit
IPA	İzopropil alkol
KH₂PO₄	Monopotasyum hidrojen fosfat
KHCO₃	Potasyum hidrojen karbonat
KI	Potasyum iyodür
KOK	Kalıcı organik kirleticiler
LDPE	Düşük yoğunluklu polietilen
LPO	Laktoperoksidaz
MAM	Marmara Araştırma Merkezi
MCH	Ortalama hücresel hemoglobin
MCHC	Ortalama hücresel hemoglobin konsantrasyonu
MCV	Ortalama hücresel hacim
MDA	Malondialdehit
MDPE	Orta yoğunluklu polietilen
MP	Mikroplastik
NP	Nanoplastik
NPP	Nandrolone fenilpropiyonat
NOAA	Ulusal Okyanus ve Atmosfer Dairesi
PA	Poliamid
PC	Polikarbonat

Kısaltmalar**Açıklamalar****PCB**

Poliklorlu bifenil

PE

Polietilen

PET

Polietilen tereftalat

PLT

Trombositler

PP

Polipropilen

PS

Polistiren

PSNP

Polistiren nanoplastik

PVC

Polivinil klorür

RBC

Kırmızı kan hücreleri

ROS

Reaktif oksijen türleri

SOD

Süperoksit dismutaz

TBA

Tiyobarbitürik asit

PSNP

Polistiren nanoplastik

PET

Polietilen teraftalat

SÇD

Su çerçeve direktifi

TÜBİTAKTürkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma
Kurumu**UV**

Ultraviyole

WBC

Beyaz kan hücresi

8-OHdG

8-hidroksi-2-deoksiguanozin

1. GİRİŞ

Plastikler, molekül ağırlığı yüksek organik moleküllerden ya da polimerlerden oluşan maddelerdir. Plastik kelimesi, Yunanca'da istenilen biçimi alabilen anlamındaki “plastikos” sözcüğünden gelmektedir. Plastiklerin başlıca özellikleri ısı ve basınç etkisiyle, kalıp ya da haddeleme gibi işlemler kullanılarak kolaylıkla çeşitli biçimler verilebilmesidir. Plastikler yarı sentetik ve tam sentetik olarak iki gruba ayrılabilir. Yarı sentetik plastikler, selüloz gibi doğal bir üründen temel zincir yapısı oluşturulmuş olan plastik grubudur. Tam sentetik plastikler, monomerlerden ya da küçük birimlerden kimyasal yolla temel zincir yapıları oluşturulan plastik grubudur. Polimerleşme, polimerlerin bileşenleri olan monomerlerden oluşturulma sürecidir (Güler ve Çobanoğlu, 1997:9).

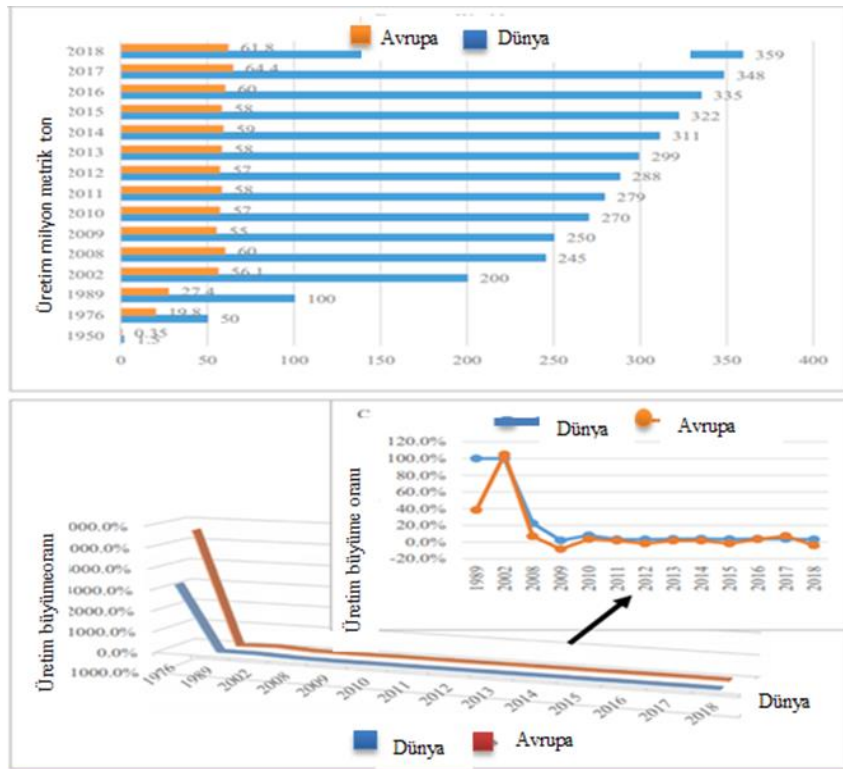
Plastiklerin tarihi gelişimine bakıldığında Antik Mezoamerikalılar döneminde kullanıldığı görülmüştür. Doğal kauçuğu ilk kez toplayarak figürinler ve bantlar halinde işlemişlerdir. MÖ 1600'den beri insanlar polimerlerin kullanımından yararlanmışlardır. Aradan geçen yıllarda, insanoğlu giderek daha fazla plastik ve kauçuk kullanmıştır. Modern termoplastiklerin gelişiminin başladığı on dokuzuncu yüzyıla kadar doğal polimerler, boynuz, mumlar, doğal kauçuk ve reçinelerle ilk denemeler yapılmıştır. Modern plastiklerin gelişimi, yirminci yüzyılın ilk 50 yılında, en az 15 yeni polimer sınıfının sentezlenmesiyle çok genişlemiştir. Endüstriyel malzeme olarak plastik kullanımı yaygınlaşmış; doğal polimerler, modifiye edilmiş doğal polimerler, ısıyla sertleşen plastikler, termoplastikler ve daha yakın zamanda biyolojik olarak parçalanabilen plastikler dâhil olmak üzere bir dizi tür ve formda kullanım için çok yönlü olduklarını kanıtlamışlardır (Andrady ve Neal, 2009).

Bir plastik çeşidi olan polietilen (PE), ilk olarak 1935'te düşük yoğunluklu bir reçine (düşük yoğunluklu polietilen-LDPE) olarak sentezlenmiştir. PE üretim süreçleri o zamandan beri daha karmaşık ve uygun maliyetli hale gelmiştir. PE şu anda dünya çapında yaygın olarak kullanılmaktadır. Lineer reçinenin ortalama yoğunluğuna göre sınıflandırılan birkaç farklı PE sınıfı vardır. Düşük yoğunluklu LDPE, 0,930–0,935 g/cm³ orta yoğunluklu polietilen, (MDPE), 0,93–0,945 g/cm³, yüksek yoğunluklu polietilen (HDPE), 0,945–0,965 g/cm³ şeklindedir (Andrady ve Neal, 2009).

Diğer bir plastik çeşidi olan polistrenin (PS) ticari üretimi 1930'larda Alman şirketi BASF (Interessen Gemeinshaft Farbenindustrie A.G.-IG Farben) tarafından başlatılmış ve 1937'de ABD'ye tanıtılmıştır. 1954'te Dow Chemical Company PS'yi geliştirmiş ve binalar için mükemmel bir yalıtım ortamı, kalıplanabilir bir ambalaj malzemesi olarak kullanılmaya başlanmıştır. PS, tüketim malları için yaygın olarak kullanılırken, endüstriyel ambalajlar, taşıma sırasında elektronik ürünlerin (televizyonlar, çamaşır makineleri, aydınlatma vb.) ve değerli eşyaları korunmasında kullanılmaktadır (Andrady ve Neal, 2009).

Plastikler, 1950'lerden itibaren günlük hayatımıza girmiş ve çok hızlı bir şekilde de kullanımı yaygınlaşmıştır (Yurtsever, 2018a). Cam, kâğıt ve metal gibi daha sağlıklı ambalaj malzemelerinin yerini almışlardır (Andrady, 2011). Bilim adamları içinde bulunduğumuz dönemi “Plastik Çağı” olarak da adlandırmaktadır (Yurtsever, 2018b).

İstatistiklere göre, küresel plastik üretimi 2018'de 360 milyon tona yakın olarak gerçekleşmiştir. Şekil 1.1' de gösterildiği gibi üretimin önümüzdeki 20 yıl içinde iki katına çıkması beklenmektedir (Lehner, Weder, Petri, Rothen, 2019).



Şekil 1.1. Plastik üretim miktarları (Lehner ve diğerleri, 2019)

Plastikler, biyolojik olarak parçalanamadıkları veya doğal bozunma süresinin çok yavaş olması nedeniyle çevrede son derece kalıcıdırlar. Çeşitlerine göre örneğin, plastik torbalar (LDPE) 20 yıl, polietilen tereftalat (PET) şişeler 450 yıl ekosferde kalabilmektedir (Yenigün, 2018).Çevrede bulunan büyük plastikler çeşitli etkilerle mikroplastik olarak parçalanmaktadır. Son yıllarda ekotoksikolojik etkilerinin potansiyel riskleri nedeniyle mikro ve nano boyutlu plastikler ile yapılan çalışmaların arttığı görülmüştür. Mikroplastikler, boyutu 0,06-0,5 mm veya >1 mm olan plastik parçalar olarak tanımlanmıştır (Zhang ve diğerleri, 2019).

Çoğunlukla belirli bir ortamda (sucul) yaygın olan türlere (balık, omurgalılar, çift kabuklular gibi) odaklanan bu araştırmalar, farklı türlerde çok çeşitli, nötr ve zararlı etkiler bildirmişlerdir (Huang ve diğerleri, 2021). Genel olarak, mikroplastik/nanoplastikler organizmaların büyümesini ve gelişmesini sınırlayabilmekte, ölüm oranını artırabilmekte, endokrin metabolizmasını bozabilmekte ve hatta gen ifadesini değiştirebilmektedir (Huang ve diğerleri, 2021).

Su canlılarında (solungaç, bağırsak, böbrek, karaciğer) gibi bazı organlarda birikerek etkilere neden olabilmektedir (Guerrera ve diğerleri 2021). Ayrıca organizmaların vücudunda biriken (biyoakümülyasyon) mikroplastikler, birincil üreticiden itibaren besin ağı boyunca taşınarak biyomagnifikasyona neden olabilmektedir (Kayhan 2019). Mikroplastiklerin oluşum dinamikleri, dağılımları, özellikle sucul ortamlardaki miktarları vb. gibi konularda aydınlatılması gereken taraflar olduğu yapılan araştırmalar sonucu ortaya çıkmaktadır. Ayrıca plastiklerin mikro boyutundan sonra nano boyutu ile ilgili tartışmalar devam etmektedir (Torres-Ruiza ve diğerleri 2021). Mikroplastiklerin/nanoplastiklerin özellikleri, çevre koşulları ve organizmaların büyüme ortamı, mikroplastiklerin/nanoplastiklerin taşınması, dağıtımı ve toksisitesi için kritik öneme sahiptir (Huang ve diğerleri, 2021).

Bu çalışmada, çevresel kirleticiler mikroplastiklerin (PS ve PE), yetişkin zebra balıkları (*Danio rerio*) üzerindeki toksik etkilerinin ileri oksidasyon protein ürünleri (AOPP), malondialdehit (MDA), glutatyon (GSH) biyobelirteçleri ile birlikte DNA oksidatif hasar üzerine etkilerinin 8-hidroksi-2-deoksiguanozin (8-OHdG) yöntemi kullanılarak değerlendirilmesi amaçlanmıştır. PS ve PE'nin besin zincirinin farklı basamaklarındaki

toksikolojik etkilerini anlamak ve tahmin etmek için elde edilen verilerin değerlendirilmesi ve literatüre katkı sağlaması hedeflenmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Plastiklerin Genel Özellikleri ve Mikroplastikler

Plastiğin icadı, kararlı kimyasal özellikleri, iyi yalıtımı, hafifliği ve dayanıklılık özellikleri ile üretime ve günlük hayata büyük kolaylıklar getiren yeni bir dönem açmıştır. Ayrıca plastiklerin düşük maliyetli ve şeffaf olmaları, oksijen/nem bariyeri özellikleri onları mükemmel ambalaj malzemesi haline getirmektedir (Yurtsever, 2018a).

Plastiklerin genel özellikleri ve tercih edilme nedenleri aşağıdaki gibi sıralanabilir:

- Hafif olmaları nedeniyle su yüzeyinde kalabilir ve yüzebilirler,
- Lipofilik özelliktedirler (yağda çözünür),
- Polimer türleridir,
- Kimyasalların çoğuna karşı dayanıklıdırlar,
- Şekil vermek ve işlemek kolaydır,
- Plastiklerin bir kısmı yeniden kullanılabilir,
- Sıcak ve soğuğa dayanıklı, elektrik akımına karşı yalıtıcıdırlar,
- Kimyasalları adsorblayarak taşıyabilirler,
- Plastikler, katkı maddeleri (ftalatlar, bisfenol A vb) kullanılarak özellikleri geliştirilebilir ve oldukça dayanıklı plastikler üretilebilir (Yurtsever, 2018a).

Çizelge 2.1 'de yaygın olarak kullanılan plastikler ve kullanım alanları verilmiştir.

Çizelge 2.1. En yaygın kullanılan plastikler ve sınıflandırılması (Yurtsever, 2018a)

Kod	Plastik Adı	Kullanım Alanları
	Polietilen tereftalat (PET)	En yaygın kullanılan plastiklerden biridir. İçecek, meşrubat, su şişeleri
	Yüksek yoğunluklu polietilen (HDPE)	Yaygın kullanılan plastiklerdendir. Deterjan, şampuan şişeleri, süt ve yağ şişeleri, oyuncaklar ve bazı plastik torbalar, piknik masaları, çöp kutuları, park bankları
	Polivinil klorür (PVC)	Gıda ambalajı şeffaf, evcil hayvan ve çocuk oyuncakları, bebek diş kaşıma aparatları, boru, pencere çerçesi, bahçe hortumu, plastik film, şişeler, bardaklar
	Düşük yoğunluklu polietilen (LDPE)	Yaygın kullanılan plastiklerdendir. Giysi ambalajları (kuru temizleme), mağaza poşetleri, bazı mobilyalar, şişeler
	Polipropilen (PP)	Yaygın kullanılan plastiklerdendir. Tek kullanımlık çocuk bezleri, plastik şişe kapakları, kovalar, yoğurt ve margarin kapları, gıda koruma ambalajları, otomobil yan sanayinde
	Plistren (PS)	Yaygın kullanılan plastiklerdendir. Tek kullanımlık malzemelerde, plastik çatal, kaşık vb., tek kullanımlık strafor bardaklar, yumurta kartonları, köpük ambalajlar, paketieme, koruma amaçlı kullanılan köpük, izolasyon
	Diğer Çeşitli plastikler veya karışımları (Polikarbonat (PC), akrilik vb.)	BPA içerebilen ürünlerdir. Tıbbi saklama kapları, kapaklar, mutfak gereçleri, su damacaneleri, otomotiv

Çevrede özellikle son yıllarda önlenemez şekilde artan çöplerin çoğunluğunu plastik atıklar, bu atıkların büyük kısmını da tek kullanımlık plastik malzemeler oluşturmaktadır.

Çevredeki plastik parçaları beş gruba ayrılmaktadır:

- 1 nm-1mm arasında olanlar nanoplastik,
- 1mm-5mm arasında mikropplastik,
- 5 mm-20 mm arasında mezoplastik,
- 20-100 mm arasında makropplastik,
- 100 mm'den büyük olanlar megaplastik (Yurtsever, 2018a).

NOAA (Ulusal Okyanus ve Atmosfer Dairesi) tarafından mikropplastikler, boyu 5 mm'den küçük plastikler olarak tanımlanmaktadır (NOAA, 2019). Bir başka tanımlamada ise, 1 µm- 5 mm arasında bir boyut aralığı mikropplastik olarak kabul edilirken <1 µm boyutundaki plastik parçacık nanoplastik olarak kabul edilmiştir (Bhagat ve diğerleri (2020). Mikropplastikler, polimer zincirlerinde birbirine bağlı karbon ve hidrojen

atomlarından oluşmaktadır (Britannica, 2022). Mikroplastik terimi, 2004 yılında deniz ekoloğu Richard Thompson tarafından yayınlanan bir raporda ilk kez kullanılmıştır (National Geographic, 2018).

Mikroplastiklerin özelliklerini kapsayacak şekilde tanımlanması ile ilgili olarak yapılan çalışmada yeni bir tanım ortaya çıkmıştır. Mikroplastikler, boyutları 1-5 mm arasında değişen, suda çözünmeyen, birincil veya ikincil üretim kaynaklı, şekilleri düzenli veya düzensiz olabilen herhangi bir sentetik katı parçacık veya polimerik matriksler olarak tanımlanmıştır (Frias ve Nash, 2019). Fiziksel, kimyasal ve/veya biyolojik etkiden sonra, büyük plastik parçaları mikroplastikler (1 μ m – 5 mm) veya nanoplastikler (<1000 nm) olarak parçalanmaktadır. Nanoplastikler, endüstriyel deşarj ve mikroplastikler de dahil olmak üzere daha büyük boyutlu plastik atıkların bozunması ve parçalanması ile ekosisteme karışabilmektedir (Zhang ve diğerleri 2020).

Kaynaklarına bağlı olarak mikroplastikler, birincil mikroplastikler ve ikincil mikroplastikler olarak sınıflandırılmaktadır. Birincil mikroplastikler plastikler mikroskobik boyutta üretilmekte ve kozmetikte, makine boyalarında, deterjanlarda kullanılmakta olup, mikrobuncuk olarak adlandırılmaktadır. (Kayhan, 2019; Jeyasanta, Sathish, Patterson, Edward, 2020). Bunlar genellikle tüketici farkında olmasa da kozmetikte diş macunu, yüz temizleme jeli, peeling kremleri gibi ürünlerde kullanılmaktadırlar (Kayhan, 2019). İkincil mikroplastikler ise ultraviyole (UV) ışınları, rüzgâr, sucul ortamlar gibi çevresel etkilerle aşınan, parçalanan ve küçük boyutlara ayrılan plastiklerdir (Kayhan, 2019). Mikroplastikler, kaynaklarına göre sucul ortamlarda farklı renklerde, çeşitli şekillerde (fiber, silindirik, oval, yuvarlak vb. amorf yapıda), farklı boyutlarda ve diğer bazı özelliklere göre değişen çok heterojen bir partikül topluluğu oluşturmaktadır (Kayhan, 2019).

Araştırmacılar, dünyanın dört bir yanındaki mikroplastik varlığını keşfetmişlerdir. Plastik kirliliğinin insan yaşamı olmayan ıssız adalardan kutup bölgelerine, hatta dünyanın en derin noktası olan Mariana Çukuru'na (10,994 m) kadar birçok yere ulaştığı ve plastik polimer parçalarına rastlandığı görülmüştür (Yurtsever, 2019). Örneğin Batı Pasifik'te 4601-5732 m derin deniz çökeltlerinde (kg kuru ağırlık ağırlığı başına 240 parçacık) ve Güney Çin Denizi'nin Xisha Adaları'ndaki mercan resiflerinde (0,2–45,2 parça/L), kuzey ve güney kutuplarındaki dağlardaki karda bile farklı derecelerde mikroplastik/nanoplastik

kirliliği saptanmıştır (Huang ve diğerleri, 2021).Doğal olarak oluşan nanoplastikler, Kuzey Denizi'nde de bulunmuştur, bunların PS, PE, polivinil klorür (PVC) ve PET karışımı oldukları gösterilmiştir (Gaylarde, Neto ve Fonseca, 2021).

2.2. Mikroplastiklerin Karasal Ekosistemdeki Genel Etkileri

Doğal ortamlarında plastik parçalarının farklı boyutlarına maruz kalan ve besin zannederek yutan her türden organizmalar yaşamlarını kaybetmektedir (Kayhan 2019). Kuşlar, sürüngenler gibi karasal canlılar plastik atıklara dolanarak (ip, poşet vb.) yaralanabilmektedir (Andrady, 2011). Hawaii adalarındaki kumsallar plastik kirliliğinin yoğun olduğu bölgeler arasındadır (Theoceancleanup, 2022). Resim 2.1'de Hawaii Adaları'nda bir kuş türünün plastik maruziyeti gösterilmiştir (Theoceancleanup,2022)



Resim 1.1. Kuzeybatı Hawaii Adaları'nda okyanus plastiği ile çevrili kuş (Theoceancleanup, 2022)

Plastiklerin kuşlar ve kaplumbağalar tarafından yutulması dünya çapında kapsamlı bir şekilde belgelenmiştir ve deniz kuşu türlerinin en az %44'ünün tonlarca plastik atığa maruz kaldığı bilinmektedir (Andrady, 2011). Çamur deşarjı, plastik atıklardan kaynaklanan döküntüler ayrışma ve sürtünme toprakta mikroplastik türlerinin kaynaklarındandır. Yüzey toprak katmanlarında mikroplastik içeriğinin daha yüksek olduğu ve mikroplastik dağılımının arazi kullanımından etkilendiği görülmüştür. Ayrıca, tarım arazilerinde atık su

ile sulama nedeniyle mikroplastik konsantrasyonunun, 1,6 kat daha yüksek olduğu bildirilmiştir. Tarım arazileri ile karşılaştırıldığında, endüstriyel alanların topraklarında ve yol kenarlarında mikroplastik içeriğinin %0,03 ile %7 arasında değişen oranlarda daha fazla olduğu tespit edilmiştir (Zhang ve diğerleri, 2019).

Toprakta yaşayan organizmalar, biyo-gözenekler oluşturarak toprak sistemini değiştirmede önemli bir rol oynamaktadırlar. Bu yapısal değişiklikler plastik parçacıklarla da ilişkili olmaktadır. Kim ve An (2019), çalışmasında mikro boyutlu plastik parçacıkların saniyeler içinde biyo-gözeneklere geçtiği ve bu akışın yay kuyruklarının (*Lobella sokamensis*) hareketini bozduğu görülmüştür. Yay kuyrukların, sıkışıp kalmamak için hareket ettiği ve bu davranışın da toprak sisteminde biyo-gözenekler yarattığı görülmüştür. Daha sonra bu boşluklara plastik parçacıkların yerleştiği ve yay kuyruklarını hareketsiz hale getirdiği gözlemlenmiştir. Plastik parçacıkların neden olduğu toprak özelliklerindeki değişikliklerin biyolojik çeşitliliği etkileyip etkilemediğini veya başka zararlı etkiler üretip üretmediğini değerlendirmek için daha fazla çalışmanın gerekli olduğu düşünülmektedir.

Zhang ve diğerleri (2021) tarafından yapılan çalışmada, Asya ve Avrupa topraklarında yapılan araştırmaların (%68,5'i tarımsal topraklar) sonucunda en sık bulunan mikroplastiklerin PE, PP ve PS olduğu görülmüştür. En yaygın mikroplastik boyutu 20–5000 µm olarak tespit edilmiştir. Toprak örneklerinin %64,3'ünün 1000–4000 adet/kg mikroplastik içerdiği gözlemlenmiştir. Mikroplastikler toprak mikro ortamını ve mikroorganizma aktivitesini değiştirerek hem toprak hayvanları (%100) hem de bitkiler (%57,9) üzerinde olumsuz etkilere neden olmuştur. Mikroplastiklerin topraklardaki mikrobiyal aktiviteleri ve toprak özelliklerini önemli ölçüde değiştirdiği tespit edilmiştir.

Mikroplastiklerin toprak hayvanları üzerindeki etkileri ile ilgili olarak yapılan çalışmalarda 0,5 mm'den küçük boyutlarda PS ve PE'ye 14-30 güne kadar maruziyet sonucunda bağırsaklar üzerinde olumsuz etkileri gözlenmiştir. Bağırsaktan sonra ise karaciğer ve böreklerin etkilendiği tespit edilmiştir. Çalışmalarda solucanlar, topraklardaki mikroplastik toksisitesini tespit etmek için sıklıkla kullanılmıştır (Zhang ve diğerleri, 2021). Mikroplastiklerin bitkiler üzerindeki etkilerinin ise kökler ve yapraklar üzerinde gözlemlendiği, bunları sürgün ve gövdenin izlediği görülmüştür (Zhang ve diğerleri, 2021).

Farklı amaçlarla kullanılan arazilerde, Bohai Denizi hem de Sarı Deniz kıyı şeridinde, Çin'in doğusundaki Shandong eyaletinde >3000 km'lik kıyı şeridi boyunca 53 bölgeden toplam 120 toprak örneği üzerinde çalışma yapılmıştır. Mikroplastikler, toprak numunelerinden ayrılarak analiz edilmiştir. Analiz sonuçlarda, plaj topraklarında farklı 7 şekle sahip (köpükler, peletler, parçalar, pullar, lifler, filmler ve süngerlerin) mikroplastik gözlemlenmiştir. Mikroplastiklerin polimer bileşimi, PE, PP, PS yanı sıra polieter ürean ve PE, PP birlikte bulunduğu bir polimer karışımını içerdiği saptanmıştır (Zhou ve diğerleri, 2018).

2.3. Mikroplastiklerin Sucul Ekosistemdeki Genel Etkileri

Kullanım veya üretim sonucu çevreye atılan plastik malzemeler rüzgâr, yağmur gibi doğa olayları ile taşınmaktadır. Plastik atıkların en çok biriktiği yerler sucul ortamlardır. 1970'lerin başında okyanuslarda plastik çöplerin varlığı ile ilgili ilk raporlar yayınlanmıştır (Andrady, 2011). İlerleyen yıllarda plastik atıklar ile ilgili yapılan çalışmalar artmış, bu atıkların ekolojik sonuçları hakkında ortaya çıkan verilerle de konuya olan ilgi artmıştır. Çalışmalarda deniz memeleri ve diğer türlerin balık ağlarına takılmasına, sahipsiz ekipmanlar ile ağ parçalarına takılarak "hayalet avcılığı" adlandırılan zararlarına odaklanılmıştır (Andrady, 2011). Resim 2.2'de bu ağların zarar verdiği deniz kaplumbağası ve denizlerden temizlenen ağlar gösterilmiştir (Theoceancleanup, 2022).



Resim 2.2. Okyanuslardaki hayalet ağlar ve deniz kaplumbağası (Theoceancleanup, 2022)

Dünya genelinde plastiklerin yalnızca %6-26'sı geri dönüştürülmektedir, bu durum ise plastiklerin yaklaşık olarak %94'ünün depolanması veya çevreye çeşitli yollardan girmesi

anlamına gelmektedir. Plastiklerin dünyadaki çevre kirliliğine en büyük katkıyı yaptığına inanılmaktadır. Küresel olarak su ortamlarında yaygın olarak bulunmaktadır (Zhang ve diğerleri 2020). Bu bakımdan okyanuslar, plastikler için muazzam bir rezervuar haline gelmiştir. PlasticsEurope, okyanuslara her yıl 6-12 ton plastiğin girdiğini ve 2025 yılına kadar okyanusta 250 ton plastiğin birikeceğini tahmin etmektedir (Huang ve diğerleri, 2021). Resim 2.3'te deniz atının plastik atığa maruz kalması gösterilmiştir.



Resim 2.3. Endonezya'nın Sumbawa adası açıklarındaki bir deniz atı (National Geographic, 2018).

Okyanuslarda bulunan plastik maddeler (makroplastikler) akıntılar ile yayılmakta hatta okyanus girdaplarına kapılıp yüzen plastik adaları oluşturmaktadır. Ayrıca nehirler plastiğin %70-80'ini taşımaktadır ve bu da dünya okyanuslarında geniş çapta birikmelerine yol açmaktadır (Xu, Ma, Ji, Pan, Miao, (2020). Okyanuslarda oluşan 5 adet plastik/çöp adası bulunmaktadır (Şekil 2.1). (Theoceancleanup,2022)



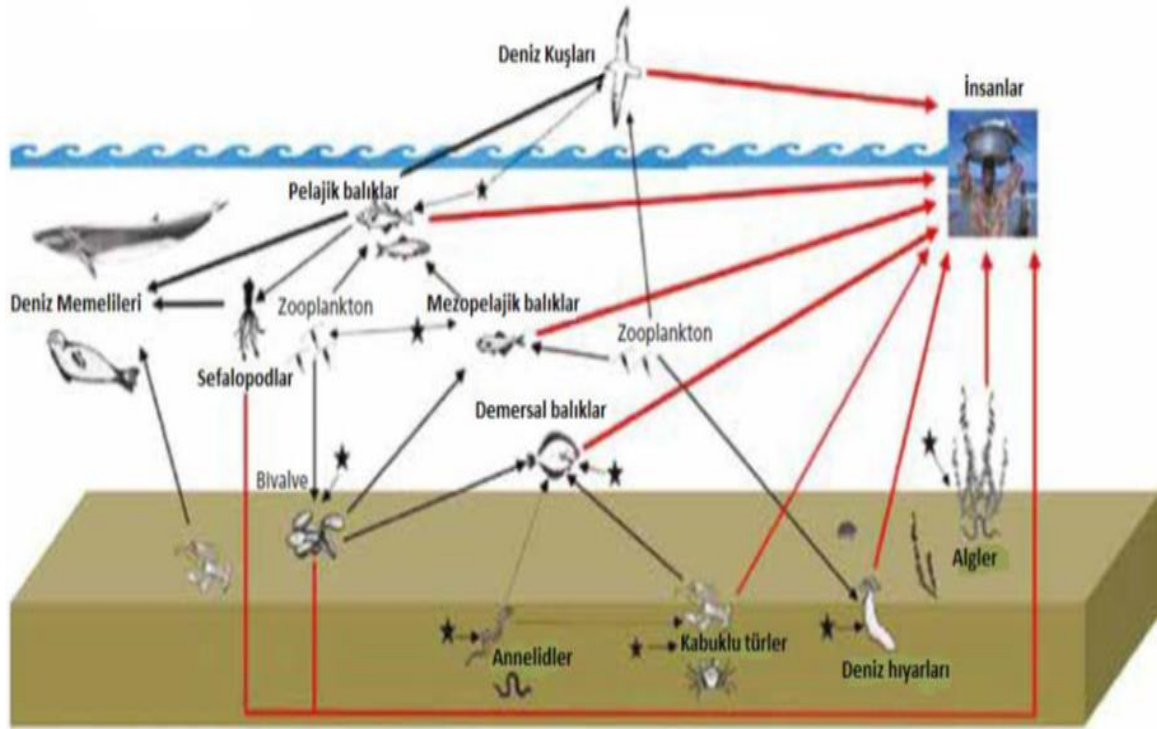
Şekil 2.1. Okyanuslardaki plastik adaları (Theoceancleanup, 2022)

Okyanuslarda bulunan plastik atıklar zamanla aşınmaya ve bölünmeye uğrayarak mikroplastik ve nanoplastikleri oluşturmaktadır. Ayrıca sucul ortamlara atık sular ile doğrudan mikroplastik girişi olmaktadır (Kayhan, 2019). Mikropartiküller ve nanopartiküller, hayvanlar tarafından alınabildikleri ve potansiyel olarak toksisiteye neden olabilecek trofik seviyeler boyunca aktarılabildikleri için suda yaşayan organizmalar için zararlı olabilmektedir (Yurtsever, 2019).

Bazı araştırmalar, zebra balıklarında mikroplastiklerin/nanoplastiklerin boyut ve şekle bağlı birikimine ve toksisitesine ışık tutmuş olsa da farklı plastik parçacık varyasyonlarına sahip geniş bir veri seti ile ayrıntılı bir çalışma gerekmektedir. Balıklar, renkleri ve kokuları tarafından yönlendirilen yiyecek parçacıkları olarak kabul ederek yanlışlıkla mikroplastikleri yutmaktadır. Plastik parçacıkların yoğunluğunun, su sistemindeki, yüzen, yüzeye yakın veya dipteki lokalizasyonunu belirlediği için diğer bir önemli faktör olduğu ve bunun da organizmalarla etkileşimini etkilediği düşünülmektedir. Örneğin, PP, PE ve strafor deniz suyunda yüzer ve yüzeyde yaşayan organizmalar için daha tehlikeli olurken, PS, PVC ve PET batar ve daha derin sularda yaşayan bentos organizmalarını etkileme olasılığı daha yüksektir (Bhagat ve diğerleri, 2020).

Bunun yanı sıra mikroplastiklerin; organoklorlu pestisitler, kalıcı organik kirleticiler (KOK' lar), endokrin bozucular, antibiyotikler vb. gibi toksik organik kimyasalları ve ağır metalleri adsorplayabilme kapasiteleri de bulunmaktadır. Hidrofobik küçük plastik

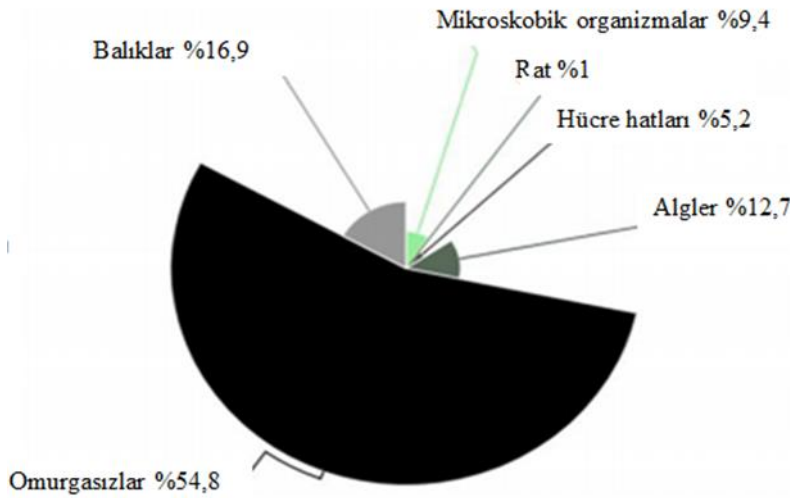
partiküllerin hacmine oranla büyük olan yüzey alanları; toksik kimyasalların polimer yüzeyine adsorplanmasını kolaylaştırarak, deniz organizmaları için kompleks bir kirletici madde karışımı sunmaktadır (Rochman ve diğerleri, 2013). Ayrıca plastiklerin üretimi esnasında alev geciktiriciler, sertleştiriciler, ağır metaller (kurşun, bakır, kadmiyum gibi), fitalatlar, BPA vb. gibi toksik olarak nitelendirilen katkı maddelerinin kullanılmasından dolayı, bu plastiklerden koparak oluşan mikroplastik parçaları da aynı toksik bileşenleri içermektedir. Plastiklerin dolayısıyla da nanoplastik ve mikroplastiklerin sucul ortamlarda çeşitli organik ve inorganik toksik kirletici maddeleri tutarak yüzeylerinde biriktirebilme ve kirleticileri canlılara taşıyarak canlılarda da biyoakümülyasyona sebep olabileme gibi potansiyelleri de bulunmaktadır (Yurtsever, 2019). Şekil 2.2.'de mikroplastiklerin denizlerde yaşayan organizmalar ile etkileşimi ve besin zincirindeki yeri gösterilmiştir.



Şekil 2.2. Mikroplastiklerin sucul organizmalar ile etkileşimleri (Kayhan, 2019)

Şekil 2.2'de, denizlerde yaşayan organizmalar ile mikroplastiklerin etkileşimi ve besin zincirindeki bulunuşları gösterilmiştir. Siyah yıldızlar mikroplastik parçacıklarını, siyah oklar organizma ile parçacık arasında gözlenen etkileşim yönünü göstermektedir. Siyah oklar mikroplastiklerin dolaylı yolla alımını, kırmızı oklar sucul organizmaların tüketilmesi sonucu mikroplastiklerin potansiyel yolunu göstermektedir (Kayhan, 2019).

Son yıllarda, yeni bir kirletici türü olarak mikroplastikler akademik dünyada yaygın bir ilgi görmüştür. Sucul ekosistemlerde polistiren nanoplastiklerin (PSNP'ler) yaygın şekilde kontaminasyonu, bunların sudaki organizmaların sağlığı üzerindeki olası etkilerine yönelik endişeleri artırmıştır (Zhang ve diğerleri 2020). Mikroplastikler/nanoplastikler ile ilgili çalışmalar çoğunlukla sucul ortamlarda ve sucul canlılarda yoğunlaşmıştır. Şekil 2.3'de ekotoksikolojik çalışmalarda kullanılan biyolojik kategorilerin yüzdesi gösterilmiştir.



Şekil 2.3. Nanoplastiklerle yapılan ekotoksikolojik çalışmalarda kullanılan biyolojik kategorilerin yüzdesi Omurgasızlar (kabuklular, yumuşakçalar, solucanlar, rotiferler ve deniz kestaneleri olarak sınıflandırılmıştır) (Piccardoa, Renzia, ve Terlizzia, 2020)

Mikroplastikler, deniz sistemlerine girdiklerinde kalıcı bir çevresel tehlike haline gelmektedir. Çalışmalar mikroplastikleri yutmuş veya maruz kalmış en az 690 deniz türünü belgelemiştir ve etkilenen türlerin en az %17'si tehdit altında veya neredeyse tehdit altında olarak listelenmiştir (Jeyasanta ve diğerleri 2020).

2.3.1 Mikroplastiklerin ve nanoplastiklerin balık beyinleri üzerindeki etkileri

Geiser ve diğerlerinin (2005) çalışmasında nanoplastiklerin kırmızı kan hücrelerine geçebildiği tespit edilmiş ve bunun sonucunda kan yoluyla beyne ulaşabilecekleri tehlikesine dikkat çekilmiştir. Kontamine olmuş su ortamında maruziyet ve gıda yoluyla alım sonucu balık beyinde nanoplastik parçacıklar tespit edilmiş, bu durum

nanoplastiklerin oldukça seçici bir geçirgen bariyerlerden olan beyin kanına geçebildiklerini göstermektedir.

Mattson ve diğerleri (2017) 53 ve 180 nm boyutlu polistiren plastiklerin yutulduğunda, havuz balıklarının (*Carassius carassius*) beynine ulaşabileceğini göstermiştir.

Nil tilapia (*Oreochromis niloticus*) üzerine yapılan araştırmada, MP'lerin kan dolaşımıyla birlikte balık beynine ulaşabildiği gözlenmiştir (Ding, Zhang, Razanajatovo, Zou, ve Zhu, 2018). Ding ve diğerleri (2020) çalışmasında, beyinde 0,3, 5 ve hatta 70–90 µm polistiren mikropplastiklerin biriktiği ve nil tilapia (*Oreochromis niloticus*) içindeki doku translokasyonlarını göstermiştir. Campanale ve diğerleri (2020), incelemelerinde yaklaşık 10 µm veya daha küçük mikropplastiklerin organlara nüfuz edebileceği ve beyne ulaşan parçacıkların beyin kanı gibi bir geçirgenlik bariyerini (BBB) geçebileceği sonucuna ulaşmıştır. Mikro ve nanoplastiklerin BBB oluşmadan önce beyne ulaşması sonucunda balık (*Danio rerio*) yaşamının erken evrelerinde beyinin NP'lere maruziyeti ortaya çıkabilmektedir (Sökmen ve diğerleri, 2020). Su ortamında farklı balık türlerinin (*Oreochromis niloticus*, *Oryzias latipes*, *Carassius carassius*) gelişimlerinin erken evrelerinde NP'lere maruz kalması ve solungaçlar aracılığıyla MP'lerin alınması sonucu bu NP ve MP'lerin balık beynine ulaşabileceği ve orada birikebileceği düşünülmektedir. Bu nedenle mikro ve nanoplastiklerin beyin üzerindeki etkilerinin araştırılması gerekmektedir (Guerrera ve diğerleri, 2021).

Su ortamında gelişimin erken dönemde NP'lere maruz kalınması, solungaçlar aracılığıyla MP'lerin alınması gibi yollarla balık (*Oreochromis niloticus*, *Oryzias latipes*, *Carassius carassius*) beynine ulaşabileceği ve orada birikebileceği düşünülmektedir. Bu nedenle mikro ve nanoplastiklerin beyin üzerindeki etkilerinin araştırılması gerekmektedir (Guerrera ve diğerleri, 2021). Mikropplastiklerin (MP'ler) ve nanoplastiklerin (NP'ler) suda yaşayan organizmalar tarafından yutulması laboratuvar ve saha çalışmaları tarafından ticari türlerle ilgili olarak araştırıldığından, balıklar tarafından alınan MP'lerin ve NP'lerin sindirim sistem (GI) tarafından emilip emilemeyeceği tartışılmaktadır. GI ile diğer vücut bölgelerine geçebileceği düşünülmektedir. Gastrointestinal bariyer bir kez atlandığında, mikro ve nanoplastikler beyin kanı bariyerini geçebildiğinde beyin de maruz kalma riski altında olacağı düşünülmektedir (Guerrera ve diğerleri, 2021).

2.3.2. Balıklarda mikro ve nano plastiklerin nörotoksitesitesi

Farklı gelişim evrelerinde olan balıklarda NP'ler dokularda birikerek sinir sistemi de dahil olmak üzere birçok olumsuz etkiye neden olmaktadır (Guerrera ve diğerleri, 2021).

Ding ve diğerleri (2020) NP'lerin ve MP'lerin sinir sistemi üzerindeki etkilerinin sadece maruz kalmanın boyutuna ve süresine değil, aynı zamanda oksidatif stres gibi dolaylı mekanizmalara da bağlı olduğunu öne sürmektedir. Bir çalışmada plastiklere maruz kalan *Dicentrarchus labrax*, *Trachurus* ve *Scomber kolialarının* beyinlerinde aynı türlerin plastiğe maruz kalmayan örneklerine göre daha yüksek (laktoperoksidaz) LPO seviyeleri ve asetilkolinesteraz (AChE) aktivitesi, gözlemlenmiştir. Daha yüksek LPO konsantrasyonları, asetilkolin içeren veziküllerin kırılmasını indükleyerek, sinaptik bölgede salınan nörotransmitterin ve bir telafi mekanizması olarak asetilkolin üretiminin artmasına neden olabileceği gözlemlenmiştir (Barboza ve diğerleri, 2020).

Ding ve diğerleri (2020) çalışmalarında ergin tilapia örneklerinde, nörolojik fonksiyonlarla ve dolayısıyla PS nonoplastiklere/mikroplastiklere maruz kalma ile ilişkili olarak fenilalanin ve tirozin amino asitlerinde aşağı regülasyon olduğunu göstermiştir. Nörolojik fonksiyonlarla ilişkili amino asitler, nanoplastikler ve mikroplastiklerle etkileşime girerek bu amino asitlerin metabolik yollarının değişmesine ve çeşitli nörotransmitterlerin oluşumunda değişikliklere neden olabileceği düşünülmüştür. Ayrıca tilapiada 1-100 µm boyutundaki PS'nin 0,3 µm parçacıklardan daha şiddetli strese neden olabileceği gözlenmiştir. Bu stresin esas olarak oksidatif strese ve LPO'nun neden olduğu hasara bağlı görülmüştür. Bu durumun mikroplastiklerde nanoplastiklere göre daha şiddetli olduğu tespit edilmiştir. Orta büyüklükteki mikroplastiklerin hücreler arasında serbestçe hareket edebilmesi, mekanik hasar, oksidatif hasar, inflamatuvar tepkiler gibi biyokimyasal yollarda değişikliklere neden olması şekilde açıklanabilmektedir.

Erişkin medaka balıklarının (*Oryzias latipes*) hem organ hemde kan örneklerinde PS nanoplastikler bulunmuştur. Ayrıca, 10 mg/L'de 7 gün maruz kaldıktan sonra, PS nanoplastikler bu türde kan beyin bariyerini geçmiş ve beyne ulaşmıştır. Merkezi sinir sistemi oksidatif strese karşı özellikle savunmasızdır, gelişimsel, motilite değişikliklerini ve nörotoksitesiteyi belirlemektedir (Kashiwada, 2006). Chen ve diğerleri (2017a), oksidatif stresin spesifik biyobelirteçlerini, katalaz aktivitesini (CAT), GSH'ı, peroksidaz

aktivitesini (GPx) değerlendirmiş ve çalışma sonuçları, oksidatif stresin nörotoksisitedeki rolünü doğrulamıştır.

Mikro ve nano plastiklerin neden olduğu kirliliğe maruz kalan balıklarda davranışsal anormallikler gözlemlenmiştir. Bu durum plastik parçacıklara maruz kalan zebra balıklarının, asetilkolin, glutamat ve amino butirik asit gibi önemli nörotransmitterlerin ekspresyonunun değişmesi sonucunda gelişebilmektedir. Nöronların uygunsuz aktivasyonu nedeniyle balıkların kontrolsüz hareketler gösterdiği gözlemlenmiştir. Bu tür değişiklikler, nörotoksisitenin göstergeleri olarak kabul edilebilmektedir. Balıklarda, mikropplastiklere maruz kalma, hücre zarlarının peroksidasyonu ile sonuçlanan hücresel oksidatif stres süreçlerinin aktivasyonunu tetiklemektedir. Beyindeki lipid peroksidasyonundan kaynaklanan hasarın, nörotransmitterleri içeren vezikül zarlarının kırılmasına ve bunun sonucunda sinaptik bağlantı noktalarındaki nörotransmitter konsantrasyonunun artmasına neden olabileceği düşünülmektedir. Mikropplastiklerin nörotoksik etkileri, AChE enziminin aktivitesindeki artış ölçülerek doğrulanmıştır. Kolinesteraz (ChE) enzimlerinin aktivitesi bağlantı noktalarında ve beyin sinapslarında kolinerjik nörotransmisyon için gereklidir. AChE aktivitesi beyin fonksiyonunu düzenlemektedir ve zebra balığında da nörotoksisite için önemli bir biyobelirteç olarak kabul edilmektedir. Nanoplastiklere maruz kalan zebra balıklarında AchE aktivitesinde bir azalma, bunun yanı sıra dopamin, melatonin, aminobütirik asit, serotonin, vazopressin, kisspeptin ve oksitosinin nörotransmitterleride inhibisyon gözenmiştir. Mikro ve nano plastiklere maruz kalan medaka (*Oryzias latipes*), küçük kaya balıklarında (*Pomatoschistus microps*) da AChE enzimatik aktivitelerinde azalma gözlenmiştir. Zebra balığı larvalarında AChE aktivitesinin inhibisyonunun sinir sisteminin işleyişine müdahale ederek büyüme geriliği, felç ve ölüme neden olduğu da yapılan çalışmalarda tespit edilmiştir. PE mikropplastiklerinin de (1-5 µm), küçük kaya balıklarında AChE aktivitesinde benzer etki gösterdiği görülmüştür (Oliveira, Ribeiro, Hylland ve Guilhermino, 2013; Chen ve diğerleri, 2017a).

Nöronal fonksiyonla ilişkili genlerin nöron farklılaşması ve akson oluşumunda yer alan genlerin aşağı regülasyonu plastiklerin zebra balığındaki nörotoksik etkilerini desteklemektedir. Zebra balığında, gfap (glial fibrillary acidic protein, Gen ID: 30646) ve α1-tubulin (alpha-1 tubulin, Gen ID: 842782) genleri, gelişimin erken aşamalarında merkezi sinir sisteminde ifade edilir ve nörotoksisitenin önemli biyobelirteçleri olarak kabul edilmektedir. Zebra balığında, gfap geni ve karşılık gelen protein yüksek oranda

korunmuştur ve memelilerinkine benzer işlevler sergilemektedir. Ayrıca, gfapın yukarı regülasyonu, memelilerde de gözlenen nörotoksisitenin bir göstergesidir. Nörotoksisite taramalarında gfapın yukarı regülasyonunun kullanımı kabul edilmekte ve ABD Çevre Koruma Ajansı (EPA) tarafından kullanılması önerilmektedir (Fan, Cowden, Simmons, Padilla ve Ramabhadran, 2010).

Karabalık'ta (*Clarias gariepinus*) PVC mikropartiküllerinin etkileri, oksidatif stres biyobelirteçleri (Süperoksit dimutaz (SOD), CAT, GPx), nörotoksisite (AChE) ve lipid peroksidasyon dikkate alınarak araştırılmıştır. PVC varlığında GPx, SOD, CAT ve AChE aktivitesinin inhibe olduğu, LPO seviyelerinin ise zamanla kademeli olarak arttığı gösterilmiştir (Guerrera ve diğerleri, 2021).

Kırmızı tilapia örnekleri, mikroplastik birikimi, oksidatif stres, p450 enzim aktivitesi, metabolik değişiklikler ve nörotoksisiteyi değerlendirmek için üç farklı boyuttaki (0,3, 5 ve 70-90 µm) PS mikroplastiklerine maruz bırakılmıştır. 5 µm PS mikroplastiklerin beyindeki AChE aktivitesini önemli ölçüde inhibe ettiği gösterilmiştir (Ding ve diğerleri, 2020).

Plastik malzemelerin kirleticileri vücut dokularına taşıyabildiği tespit edilmiştir. Bu vektör işlevi araştırmacılar tarafından çok önemli görülmemektedir. Ancak bu durum plastiklerin toksisitesini ve diğer kirleticilerle etkileşimini artırabilmektedir. Plastiklerin, çeşitli kirleticileri (IPA-izopropil alkol, PCB-poliklorlu bifenil, HCH-hekzaklorosikloheksan) adsorblayabildiği bilinmektedir. Ayrıca, plastiklere eklenen tüm katkı maddelerinin (BPA, plastikleştiriciler, alev geciktiriciler ve antimikrobiyaller) dikkate alınması gerekmektedir (Guerrera ve diğerleri, 2021). Epoksi reçineler ve polikarbonat plastiklerde en çok kullanılan katkı maddesi BPA, yıllardır obezite ve bağışıklık ve endokrin sistem bozukluklarının bir nedeni olarak kabul edilmiştir. Yapılan bir çalışmada BPA'nın beyin üzerindeki olumsuz etkileri vurgulanmıştır. Beyinde dahil olmak üzere çeşitli zebra balığı organlarında BPA ve nandrolone phenylpropionate (NPP) birikimi gösterilmiştir (Saili ve diğerleri, 2012). Chen, Huang, Hu, Yu, Yang ve Zhou (2012) çalışmasında, zebra balığı merkezi sinir sisteminin gelişimi süresince genlerin ve proteinlerin farklı ekspresyonu nörotoksisitenin biyobelirteçleri olarak değerlendirilmiştir. Chen ve diğerleri (2017b), NPP'ler ve BPA'ya birlikte maruz kalmanın yalnızca zebra balığı organlarında artan BPA birikimine yol açmadığını, aynı zamanda merkezi sinir ve dopaminerjik sistemler üzerindeki nörotoksik etkilere neden olduğunu göstermiştir. NPP'lere ve BPA'ya birlikte

maruz kalma sırasında, merkezi sinir sisteminden sadece miyelin ve t b lin temel protein genlerinin yukarı regülasyonu ve artan dopaminin yanı sıra orta beyinde astrosit türevli nörotrofik faktör (MANF) ekspresyonunu yukarı regülasyonu ve AChE enzim aktivitesinin önemli derecede inhibasyonu da gözlenmiştir.

Lee ve diğ rleri (2019)  alışmasında zebra balığı embriyoları floresan NNP ve altın (Au) iyonları ile birlikte maruz bırakıldıklarında deformite ve ölüm oranında bir artış ve ayrıca inflamatuvar yanıtın aktivasyonu gözlenmiştir. Ayrıca, ROS seviyeleri artarak mitokondriyal hasara neden olmuştur. Mikro ve nanoplastiklerin balık gelişimi üzerindeki olumsuz etkileri de aynı derecede önemlidir. Özellikle embriyonik gelişim sırasında mikro ve nanoplastiklerin olumsuz etkileri ve gelişimin erken dönemlerinde koryonun koruyucu işlevi değ rlendirilmiştir. Koryonun hem de koryonat embriyolarda hem de başka yerlerde kirleticilere karşı koruyucu etkisi gözlemlenmiştir.  alışamda zebra balığında absorpsiyon, biyobirikim, toksisite embriyolar ve larvalar, 44 nm nanoplastikler kullanılmıştır.

2.3.3. Mikroplastiklerin ve nanoplastiklerin balık solungaçları üzerindeki etkileri

LDPE parçalarının diğ r parametrelerin yanı sıra solunga lardaki doku değişikliklerinin derecesini etkileyerek toksisiteye neden olabileceği tespit edilmiştir. Solungaç dokularında, bazal hücre hiperplazisi, bağ dokusunda nekroz gibi bazı histolojik değişiklikler gözlenmiştir (Karami, Romano, Galloway ve Hamzah, 2016). Jabeen ve diğ rleri (2018), çalışmasında, solungaçlarda tutulan mikroplastik liflerin filamentlerin parçalanmasına neden olduğunu gözlemlemişlerdir. Bu durumun doğrudan temastan kaynaklandığı, plastik partikül boyutu ve şekli ile ilişkili olduğu düşünülmüştür. Yapılan bir çalışmada yüksek mikroplastik konsantrasyonuna maruz kaldıktan sonra solungaçlarda lipit oksidatif hasarın meydana geldiğini, düşük konsantrasyonda hasar oluşmadığını gözlemlemişlerdir. Mikroplastiklere maruz kaldıktan sonra larva solungaçlarında mikroplastiklerin neden olduğu oksidatif stres tespit edilmiştir (Barboza ve diğ rleri, 2018).

Yapılan bir çalışmada, *Oncorhynchus mykiss*'te ifn  genini yukarı regülasyonunu, zebra balığı solungaçlarında S100a genini yukarı regülasyonunu ve zebra balığı solungaçlarında    bağışıklık geninin yukarı regülasyonunu (ifn , il1  ve igm) indükleyen mikroplastik partikülleri gözlemlenmiştir (Lu, Kania ve Buchmann, 2018). Limonta ve diğ rleri, (2019)  alışmalarında mikroplastiklere maruz kalan balıkların solungaç dokusunda daha yüksek

yoğunlukta nötrofiller ortaya çıkarmıştır. Mikroplastiklerin solungaçlar üzerindeki etkilerinin, maruz kalma konsantrasyonlarına da bağlı olduğu görülmüştür.

Hu ve Pali’c (2020), yetişkin Japon medakasını (*Oryzias latipes*) polyester ve polipropilen (PP) MPs liflerine maruz bırakarak yaptıkları çalışmada taramalı elektron mikroskobu (SEM) ile solungaçlarda mukus artışı, solungaç yayları üzerindeki epitelde deformasyon ve primer lamellalarda füzyon saptamışlardır. SEM ve histokimyasal analizler, mukus hücrelerinin arttığını göstermiştir. Balık solungaçlarında mikroplastik birikimi, farklı balık türleri üzerinde yapılan farklı çalışmalarda tespit edilmiştir. Balık çiftliği ve yetiştiricilik alanlarından toplanan balıklar gibi, laboratuvar koşullarında mikroplastiklere maruz bırakılan balıklarda da birikim, solungaçlarda bağırsakta olduğundan daha fazladır. Solungaçlardaki birikimin maruz kalma süresi ile arttığı görülmüş, mikroplastiklerin şekli ve boyutu ile de ilgili olduğu görülmüştür (Guerrera ve diğerleri, 2021).

Oksidatif değişikliklerin mikroplastiklerin boyut aralığı ile yüksek oranda ilişkili olduğu düşünülmektedir. Daha küçük mikroplastiklerin toksisitesinin, hedef doku, maruz kalma süresi ve mikroplastiklerin kimyasal özellikleri dahil olmak üzere çeşitli faktörlerle yakından ilişkili olduğu belirtilmiştir (Zitouni ve diğerleri, 2021).

Mikroplastiklerin neden olduğu oksidatif stres, solungaç yapısal hasarına ve histolojik değişikliklere (solungaç lamellerinde deformasyon, solungaç lamellerinin kısalması ve kalınlaşması) neden olmaktadır. Oksidatif strese benzer şekilde gen ekspresyonu da plastik boyutlarına bağlı olarak mikroplastik ve nanoplastik maruziyetinden farklı şekillerde etkilenebilmektedir (Guerrera ve diğerleri, 2021).

2.3.4. Mikroplastiklerin ve nanoplastiklerin balık sindirim sistemi üzerindeki etkileri

Hedef organın bağırsak olduğu mikroplastik ve nanoplastik alımında gıda kaynaklı maruziyet kontaminasyonun başlıca nedenidir. Mikrofiber veya mikrobuncuk şeklindeki plastik parçalar, balıkların sindirim sisteminde yem ve suyoluyla birikebilmektedir. Deneysel koşullar altında yürütülen çok sayıda çalışmada kanıtladığı gibi, mikroplastiklerin yutulması deniz organizmaları üzerinde iki farklı etki türü oluşturabilmektedir: Birikmenin meydana geldiği organlarda fiziksel yaralanmalar ve toksik madde alımının artması veya biyoyararlanımlarında bir artış ile kirleticilerin

transferi ve birikmesi yoluyla kimyasal hasar. Mikroplastiklerin ve nanoplastiklerin bağırsakta birikmesinin etkileriyle ilgili olarak farklı sonuçlar görülebilmektedir. Bağırsakta mikroplastiklerin fiziksel varlığının, bağırsak epitelinin yaralanmasına, doku aşınmasına ve bağırsak tıkanmalarına neden olabileceği gösterilmiştir. 90 gün boyunca mikroplastiklerle beslenen *Dicentrarchus labrax* üzerinde yapılan çalışmalar, hem kontamine plastiklere maruz bırakılan örneklerde hem de saf mikroplastiklere maruz bırakılanlarda bağırsaklarda fiziksel hasar göstermiştir. Bağırsakta deformasyonlar, ülserler, sindirim sisteminde tıkanıklıklar, enteritis, bağırsak duvarı incilmesi, villuslar, bağırsak dokularında epitel hasar ve oksidatif stres de çeşitli çalışmalarda tespit edilmiştir (Barboza ve diğerleri, 2018).

Diğer bir etki olarak PVC mikrolastiklere maruz bırakılan *Cyprinus carpio* larvalarında ağırlık ve vücut uzunluğunda bir azalma gözlenmiştir. Mikroplastiklerin ve nanoplastiklerin bağırsak duvarını geçmesi durumu ise farklı bir tartışma konusu olmuştur. Bazı araştırmacılar, balıklardaki mikroplastiklerin gastrointestinal sistemde kaldığını ve bir kısmının da dışkıyla birlikte atıldığını öne sürmektedir. Bazı araştırmacılar ise balık filetolarında mikroplastik tespit etmiştir. Bu nedenle küçük plastik parçacıkların ($<0,1 \mu\text{m}$) bağırsak yoluyla dolaşım sistemine geçebileceği, böylece diğer tüm organ ve dokularda olduğu gibi kaslara da yayılabileceği düşünülmüştür. Ayrıca çeşitli tip ve boyutlardaki mikroplastiklerin bağırsak yoluyla lenfatik sisteme transferi de gösterilmiştir (Xia, Sun, Zhou, Chang ve Li, 2020).

Bengal Körfezi'nin Güneydoğu kıyılarından toplanan bazı balık türlerinin (ticari, dip, resif) gastrointestinal kanallarında mikroplastik ($<5 \text{ mm}$ çapında) ve mezoplastiklerin (5-20 mm çapında) varlığı gözlemlenmiştir. Hint halkının kuru balık tüketme geleneği bulunmaktadır ve balık bağırsağındaki mikroplastiklerin varlığı nedeniye doğrudan tüketildiklerinden potansiyel olarak ciddi bir sağlık sorunu oluşturmaktadır (Karuppasamy ve diğerleri, 2020).

2.3.5. Mikroplastiklerin ve nanoplastiklerin balık karaciğeri üzerindeki etkileri

Karami ve diğerleri (2016) tarafından Afrika yayın balığında (*Clarias gariepinus*) yağ ve lipit birikimi göstergeleri veya lipit profilinde değişiklikler saptanmıştır. *Engraulis encrasicolus*, *Sardina pilchardus* ve *Clupea harengus*'un karaciğerlerinde, hepatik

dokunun bozunmasından sonra ve polarize ışık mikroskopunda gözlenen karaciğer kriyoseksiyonlarında mikroplastikler gözlenmiştir. Karaciğerlerde, 124 µm ila 438 µm arasında değişen nispeten büyük mikroplastikler tespit edilmiştir.

Mikroplastikler ve nanoplastikler bağırsak bariyerini geçebileceği için, kan dolaşımı yoluyla karaciğer ve böbrek gibi organlara ulaşabileceği düşünülmektedir. Karaciğerde, oksidatif stres enzimatik ve metabolik değişikliklere neden olmaktadır. Tıkanıklık, sinüzoidal dilatasyon, glikojen tükenmesi ve hücrel nekroz da bulunmuştur (Guerrera ve diğerleri, 2021).

2.3.6. Mikroplastiklerin ve nanoplastiklerin balık böbrekleri üzerindeki etkileri

Plazma globülin ve albümin değişiklikleri yavru *Clarias gariepinus* üzerinde MP'lerin farklı türü ve boyutu, maruz kalma süresi ve uygulanan dozlar ile tespit edilmiştir (Karami ve diğerleri, 2016).

Espinosa, Cuesta ve Esteban (2017), balıklarda kreatin kinaz, albümin ve globülini ölçerek MP'lere bağlı böbrek hasarını göstermişlerdir. Bu parametreler, 15 gün ve 30 gün boyunca 100 mg/kg'da PVC'ye maruz bırakılan balıklardan alınan serumda önemli ölçüde artış olduğu görülmüştür.

Histolojik analiz yoluyla yapılan bir çalışmada mikroplastik maruziyetinden sonra böbrekte glomerülopati ve nefrojeniz gibi değişiklikler bulunmuşlardır. Glomerülopati, glomerüler kapillerlerin genişlemesi ve tıkanması olarak görülmüştür. Ciddi vakalarda glomerüler boyutunun artışı ve Bowman boşluğunun genişlemesi, nefrojeniz tübüler ve/veya glomerüler jenarasyon veya rejenerasyon olarak belirginleşmiştir. Araştırmacılar, maruz kalan balıklarda glomerülopati ve nefrojenizin şiddetinin, maruz kalma düzeyi ile arttığını tespit etmişlerdir (Zhu ve diğerleri, 2019).

Böbrek sağlığı, glomerüler filtrasyon hızının bir indeksi ve böbrek fonksiyon bozukluğu için bir biyobelirteç olan kreatinin ve ürik asit değerlendirilerek de tespit edilebilmektedir. Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) 15 gün mikroplastiklere maruz bırakıldıktan sonra balık böbrek fonksiyonunda (kreatinin ve ürik asit) önemli bir artış saptamıştır (Hamed, Soliman, Osman, Sayed, 2019).

Brandts ve diğerleri (2019) nanoplastiklerin, Avrupa levreği (*Dicentrarchus labrax*) anterior böbreğinde bağışıklık fonksiyonu, hücresel stres ve strese bağlı hormon salgılanması ile ilgili hedef genlerin ekspresyonunu değiştirdiğini göstermişlerdir.

Deniz balıkları pazarından toplanan 11 ticari balık türünün böbreklerinde ve laboratuvarında mikro ve nanoplastiklere maruz bırakılan balıkların böbreklerinde görülmüştür. Yapılan çalışmalar sonucunda mikropplastikler ve nanoplastiklere maruz kaldıktan sonra böbrekte bir hasarın oluşabileceği ve bu durumun böbreğin immünojenik kısmını da içerebileceği düşünülmüştür (Guerrera ve diğerleri, 2021).

2.3.7. Mikropplastiklerin ve nanoplastiklerin balıklarda kan parametreleri üzerindeki etkileri

Balıklarda hematolojik ve hematokimyasal parametreler, birçok hastalığın teşhisinde, dolayısıyla balıkların sağlık durumunun, balığın fizyolojik durumunun, beslenme koşullarının ve içinde yaşadıkları suyun kalitesinin değerlendirilmesinde kullanılan önemli indekslerdir. Çeşitli kirletici maddeler ve malzemeler arasında, mikropplastikler, su ortamında her yerde bulunmaları nedeniyle dünyadaki en bol kirleticileri temsil etmektedir. Son yıllarda, mikropplastiklerin ve nanaoplastiklerin sucul organizmalar üzerindeki etkisini izlemek için yapılan çalışmalar büyük ölçüde artmıştır (Guerrera ve diğerleri, 2021).

Nil Tilapia (*Oreochromis niloticus*) üzerinde yürütülen bir çalışmada, mikropplastiklere maruz kaldıktan sonra bu türün hematolojik ve hematokimyasal parametrelerinde farklılıklar gözlemlenmiştir. Hematolojik profil ile ilgili olarak elde edilen sonuçlarda Kırmızı kan hücreleri (RBC), hemoglobin (Hb), hematokrit (Hct), ortalama hücresel hemoglobin konsantrasyonu (MCHC), trombositler (PLT), beyaz kan hücresi (WBC) ve monositlerin yüzdesinde mikropplastiklere maruz kaldıktan sonra önemli bir azalma görülmüştür. Lenfositlerin, eozinofillerin ve nötrofillerin yüzdesi, mikropplastiklere maruz kaldıktan sonra dalgalanma göstermiştir. Aksine ortalama hücresel hacim (MCV) ve ortalama hücresel hemoglobin (MCH) değerleri anlamlı artış görülmüştür. Hematolojik parametrelerdeki bu değişiklikler, mikropplastiklerin toksisitesine bir yanıt olarak bir savunma mekanizmasını göstermektedir (Hamed ve diğerleri, 2019).

Bağışıklık sistemi mikropplastikler ve nanoplastiklerdeki toksik kimyasallardan etkilenmektedir. Balığın bağışıklık sistemi, çevresel stres faktörlerine verilen olumsuz

tepkinin yararlı bir göstergesidir. Mikroplastikler ve nanoplastiklerin kemokinler, sitokinler ve fagositler üzerindeki etkileri ve artan globulinler ve immünoglobulinler seviyeleri tespit edilmiştir. Mikroplastiklere maruz kaldıktan sonra Nil Tilapia ve küçük kaya balığında kreatinin, ürik asit, aspartat aminotransferaz (AST), alaninaminotransferaz (ALT), alkalenfosfataz (ALP), glikoz, kolesterol, toplam protein, albümin, globulin ve A/G oranında önemli bir artış görülmüştür (Hamed ve diğerleri, 2019).

ALT, AST, ALP, kreatinin, glikoz düzeylerinde artış, mikroplastiklerin ölümcül olmayan konsantrasyonlarına maruz kalan sazanlarda (*Cyprinus carpio*) da görülmüştür (Haghi ve Banaee, 2017). Ayrıca, balıklarda nano-plastik alımının kandaki trigliserit/kolesterol oranını değiştirebileceği gösterilmiştir.

2.4. Ülkemizde Mevcut Durum ve Politikalar

Türkiye üç tarafı denizlerle çevrili olan aynı zamanda göller ve akarsular gibi sucul ortamlara sahip bir coğrafyada yer almaktadır. Bu nedenle plastik kirliliğinin sucul ortamlardaki mevcut durumu önemlidir.

Yapılan bir çalışmada, Aralık 2016 ile Ocak 2017 arasında Türkiye'nin kuzeydoğu Akdeniz bölgesinde meydana gelen çoklu sellerin Mersin Körfezi'ndeki mikroplastik kirliliği üzerindeki etkisini değerlendirilmiştir. Şiddetli yağmurların neden olduğu sellerin, deniz ortamlarına önemli miktarda kirletici madde taşıdığı görülmüştür (Gündoğdu, Çevik, Ayat, Aydoğan ve Karaca, 2018).

Taşkın dönemi öncesi ve sonrası dört farklı istasyonda örnekleme tekrarlanmış ve dört istasyonda taşkın öncesi ortalama miktarın 539,189 adet/km², sonrasında ise 7 699 716 adet/km² olduğu görülmüştür. Artış oranının 14 kat olduğu belirlenmiştir. ATR FT-IR analizinde 14 farklı polimer türü tespit edilmiş ve bunların 8'inin selden önce toplanan örneklerin içinde olmadığı görülmüştür. En yaygın polimer türü, hem taşkın öncesi hem de sonrası PE olarak tanımlanmıştır. Taşkın öncesi dönemde 2,37 mm olan ortalama tane boyutu, taşkın sonrası dönemde 1,13 mm olarak gözlemlenmiştir (Gündoğdu, Çevik, Ayat, Aydoğan ve Karaca, 2018).

Yurtsever (2018b), çalışmasında Sakarya ilinde marketlerde satılan 10 farklı markanın tuzlarını (kaya tuzu, deniz ve göl tuzları) incelenmiştir. Bu tuzlarında çoğunluğunun yüksek yoğunluklu polietilen (HDPE) içeren ambalajlar kullanılarak pakletlendiği görülmüştür. Alınan numuneler mikroskop ile incelendiğinde mikroplastiklere rastlanmış ve bu mikroplastikler renk ve şekillerine göre değerlendirilmiştir. Şekil olarak rastlanan mikroplastikler, mikrolif, parçacık ve film olarak tespit edilmiştir. Mikroplastiklerin renkleri ise şeffaf, siyah, gri, lacivert-koyu mavi, mavi-açık mavi, kahverengi, pembe-kırmızı-bordo, turuncu, sarı, beyaz ve diğer (yeşil, mor vd.) olarak gözlenmiştir.

Tuz numunelerinde şekil olarak en fazla lif ve renk olarak da en fazla mavi renk tonlarında mikroplastik gözlenmiştir. 200 g olarak alınan deniz, göl ve kaya tuzu numunelerinde mikroplastik sayısı ortalama olarak deniz tuzunda 56, kaya tuzunda 28, göl tuzunda 63 adet olarak tespit edilmiştir. Mikroplastiklerin boyutları ise 100 µm-1000 µm aralığında olduğu 100 µm'den küçük ve 1000 µm'den büyük parçacıkların da bulunduğu görülmüştür (Yurtsever 2018b).

Gündoğdu ve Çevik (2019a) tarafından Greenpeace Akdeniz için hazırlanan bir raporda Türkiye denizlerindeki mikroplastik kirliliği bazı deniz canlıları incelenerek araştırılmıştır. Akdeniz, Ege ve Marmara denizinden toplanan kefal, istavrit, mırmır, barbunya, kırmızı karides ve tekir balık türlerinin sindirim kanalları ve midelerinde mikroplastik araştırılmıştır. Ayrıca çok tüketilen diğer besin maddesi olan midyelerde de mikroplastik miktarları incelenmiştir. Marmara ve Ege Denizi'nden toplanan veya bu bölgelerde çiftliklerde yetiştirilen midyelerden üretilen Ankara, Bodrum, Adana, İzmir ve İstanbul gibi şehirlerde tüketilen midye dolma içerisindeki mikroplastikler incelenmiştir. Bu şekilde tüketilen deniz canlıları çeşitlendirilmiş, evde, sokakta ve restoranlarda ne kadar mikroplastığın tüketiciye ulaştığı gözlenmiştir. Araştırma sonuçlarına göre, incelenen balıklardan barbunyanın %63'ünde, kefalın %64,8'inde tekirin %32,8'inde, mırmırın 34,3'ünde istavritin %26,7'sinde mikroplastik gözlenmiştir. Bunun sonucunda genel olarak tüm balıkların %44,3 ünde mikroplastik olduğu gözlenmiştir. Yaklaşık olarak her iki balıktan biri mikroplastik içermektedir. Çalışma ile balık başına düşen mikroplastik adetleri de hesaplanmıştır. Tüm bireyler değerlendirilerek mikroplastik adetleri balık başına barbunyada 1,1, kefalde 2,5, istavritte ve tekirde 0,4, mırmırda ise 0,6 olarak tespit edilmiştir. Sonuç olarak 5 farklı balık türünde ortalama mikroplastik adedi 1,08 adet/balık olmuştur. Bölgesel olarak denizlerde balık başına düşen mikroplastik adedi incelendiğinde,

Marmara Denizi'nde (İstanbul) 0,85 adet, Ege Denizi'nde (İzmir 1,7 adet ve Akdeniz'de (Adana) 0,74 adet olarak tespit edilmiştir.

Çalışmada incelenen ve Mersin ilinden toplanan kırmızı karides örneklerinin ise %18,8'inde mikroplastığa rastlanmış, 10 karidesten 2'sinde 0,28 adet mikroplastik olduğu görülmüştür. 5 farklı noktadan toplanarak incelenen midye dolmaların ise %91,2'sinde mikroplastik olduğu gözlenmiş, midye başına ortalama olarak 0,63 adet mikroplastik tespit edilmiştir. Midye dolma çok tüketilen bir besin olmakla birlikte porsiyon olarak hesaplandığında 100 gr midye tüketilirse 5,76 adet, 250 gr tüketilirse 14,41 adet mikroplastik alımı riski olduğu düşünülmüştür (Gündoğdu ve Çevik (2019a).

Bu besinlerin tüketimi sonucu insan vücuduna sindirim sistemi yoluyla mikroplastik alımı olabileceği ve biyoakümülyasyon ihtimali ortaya çıkmaktadır.

Diğer bir çalışmada Mayıs 2018'de İskenderun Körfezi'ndeki 13 kıyı bölgesi mezo ve makroplastik (0,5-123,4 cm) kirliliğini araştırılmıştır. Beş kategoride (filament, film, köpük, parçalar, peletler) toplam 1424 meso ve makroplastik toplanmıştır. Ortalama mezo ve makroplastik konsantrasyonu $12,2 \pm 3,5$ adet/m² ($12,3 \pm 3,5$ g/m²) ve tüm istasyonlar için ortalama boyut $3,7 \pm 0,16$ cm olarak tespit edilmiştir. En yüksek mezo ve makroplastik konsantrasyonu Dört Yol lokasyonunda ($46,2 \pm 7,6$ adet/m²), en düşük konsantrasyon ise Yumurtalık Lagünü lokasyonunda ($2,3 \pm 0,2$ adet/m²) gözlemlenmiştir. Plastikler kökenlerine göre 14 farklı gruba ayrılmıştır. En baskın tür %59,8 ile sert plastikler (kırık, parçalanmış, deforme olmuş) ve %11 ile sera örtücü filmler olmuştur. Çok çeşitli yollardan sahillere plastik akışlarının olduğu tespit edilmiştir. Kıyı ekosistemleri önemli miktarda ekolojik çeşitliliğe ev sahipliği yapmaktadır. Kıyı ekosistemleri, vahşi yaşamı koruma, karbon yakalama, turizm gibi sağladıkları birçok hizmet nedeniyle hem insan hem de yaban hayatı için vazgeçilmezdir. Buna karşılık, kıyı ekosistemlerinin etrafında insan faaliyetlerindeki artış buradaki organizmalara zarar verebilmektedir. Özellikle, atık yönetimindeki eksik uygulamaların, kıyı ekosistemlerinin atık yığınları haline gelmesine yol açtığı görülmüştür (Gündoğdu ve Çevik, 2019b).

Kanlı ve Kurt (2019), Türkiye'de çevre politikaları kapsamında mikroplastik kirliliğini değerlendirmiş tespit ve önerilerde bulunmuştur. Ülkemizde denizlerde meydana gelen kirliliğin önlenmesi için 1970'li yıllardan başlayarak sözleşmeler imzalanmıştır. Barselona

Sözleşmesi ile Akdeniz'e kıyısı olan ülkeler kirliliği azaltmak için ilk ortak girişimi oluşturmuştur. 2000'li yıllarda, Avrupa Birliği politikaları ile AB Deniz Stratejisi Çerçeve Direktifi (DSÇD) ve AB Su Çerçeve Direktifi (SÇD) stratejileriyle ekosistem temelli ve bütüncül izleme yaklaşımı getirilmiştir. Türkiye'de yürütülen deniz izleme çalışmaları bu oluşumlar sonrasında birleştirilmiş, 2011 yılından bu yana Denizlerde Bütünleşik İzleme Çalışması olarak yürütülmektedir. 2013 yılından itibaren AB direktifi (DSÇD) kapsamında mikroplastiklerin izlenmesi yapılmakta ve mikroplastik izlemelerin numune alımı ve analizleri konusunda uluslararası bir kesinlik olmadığı için Türkiye'de sadece 9 noktada nitelikli araştırmalar yapılmaktadır. Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu-Marmara Araştırma Merkezi (TÜBİTAK-MAM) tarafından 2014- 2016 yıllarını kapsayan izleme programları gösterilebilir. Bu programlar tüm denizler için yapıp "Denizlerde Bütünleşik Kirlilik İzleme İşi 2014-2016 Özet Raporları" olarak kamuoyunun bilgisine sunulmuş olup, uygulanacak politikalar için yol gösterici olması amaçlanmıştır. TÜBİTAK-MAM iş birliğinde Çevre ve Şehircilik Bakanlığı'nda 2017-2019 dönemleri için bir izleme programı yapılmasına dair bir anlaşma daha yapılmış ve izleme, değerlendirme, raporlar, sonuçlar Sivil Toplum Kuruluşları (STK), üniversiteler, belediyeler, kamu kurumları ve ilgili diğer paydaşlarla paylaşılmıştır.

Ayrıca uluslararası çevreci sivil toplum kuruluşu olan Greenpeace ve WWF (Dünya Doğayı Koruma Vakfı) gibi kuruluşlar da toplumlarda farkındalık oluşturmak için çalışmalar yapmaktadır. Ülkemizde WWF-Türkiye ile Cumhurbaşkanlığı öncülüğünde 2017 yılında sıfır atık programı başlatılmış ve çalışmanın bir basamağı olarak plastik poşetlerin yaygın kullanımının azaltılması için tedbirler alınmıştır (Kanlı ve Kurt, 2019).

Elde edilen sonuçlar değerlendirildiğinde, mikroplastiklere yönelik politikaların, Türkiye'de gelişmekte olduğu ve geliştirilen politikalarında büyük ölçüde makro plastiklere yönelik olduğu görülmektedir. Mikroplastik sorununa yönelik mevzuat düzenlemesinin yapılması, yasaların çıkartılması önemli bir aşama olacaktır. Küresel politikalar takip edilerek uyum sağlanması önemli bir konudur. Plastik tüketiminin yanında üretimi ile ilgili de düzenlemeler yapılmalıdır. Konun sosyal boyutu ile ilgili de çalışmalar yapılması faydalı olacaktır. Okul müfredatında ekosistem ve çevre bilgileri verilmesi ve bu konuda bilinç oluşturulması önemlidir. STK'lar mikroplastik kirliliği ile ilgili çalışmalara dahil edilmeli ve aktif olarak çalışmalıdır. Bu konuda ülkemizde mevzuat ve politikaların iyileştirilmesine yönelik çalışmalar yapılmaktadır (Kanlı ve Kurt, 2019).

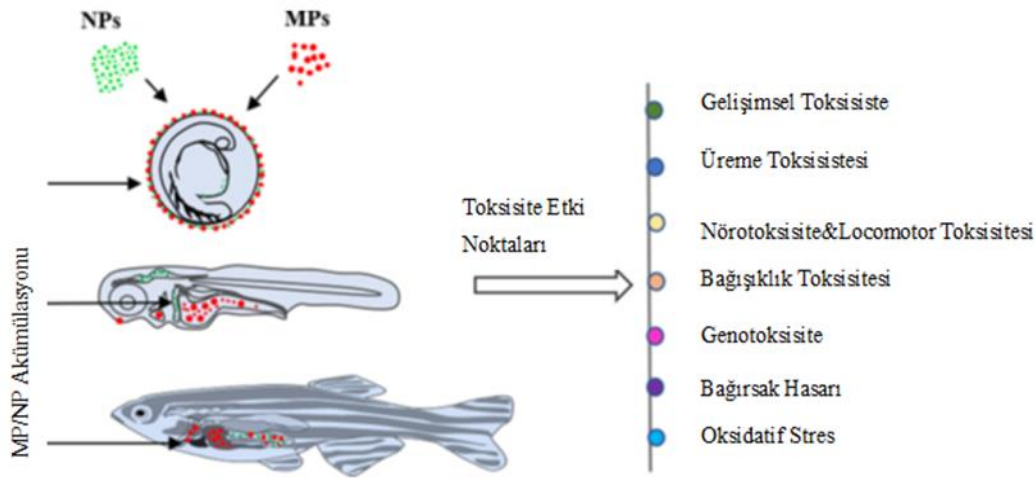
Çin'in 1 Ocak 2018'de plastik ithalatını yasaklamasının ardından Türkiye, küresel plastik atıkların önemli bir ithalatçısı haline gelmiştir. Türkiye, yasaktan önce (2018 yılı öncesi) yılda yalnızca 261,864 ton plastik atık ithal etmiştir. Bu rakam 2020 yılına kadar yıllık 772,831 tona yükselmiştir ve 143 milyon ABD doları olarak gerçekleşmiştir. Türkiye son zamanlarda plastik atık ithalatına kısıtlamalar getirmiştir (kotalar, %1 kirlilik limiti, karışık plastik atık ithalatının yasaklanması), ancak yasa dışı atık boşaltımı ve yakılması yaygın olarak rapor edilmektedir. Türkiye, plastik üretiminde Avrupa'da ikinci ve dünya çapında yedinci sırada yer almaktadır, ancak mevcut evsel atık yönetimi ve geri dönüşüm programları evsel plastik atık üretimi yanında yetersiz kalmaktadır. Türkiye'de üretilen evsel katı atıkların yaklaşık %90'ı düzenli depolama alanlarına atılmaktadır. Plastik atıkların iyi yönetilememesi nedeniyle, plastik atıklar Akdeniz'e atılmaktadır. Bu nedenle de Türkiye, Avrupa denizlerindeki plastik kirliliğinde en büyük paya (%16,8) sahiptir (Gündoğdu ve Walker, 2021).

Türkiye'de tehlikesiz atık ithalatına ilişkin iş ve işlemlerin yürütüldüğü Ticaret Bakanlığı'nca her yıl yayımlanan (2020 Aralık) Çevrenin Korunması Yönünden Kontrol Altında Tutulan Atıkların İthalat Denetimi Tebliği'nde bazı değişiklikler yapılmış ve kısıtlamalar getirilmiştir (Gündoğdu ve Walker, 2021).

2.5. Zebra Balığı

İnsan genomuna biyolojik ve genetik olarak benzerlikleri nedeniyle bilimsel araştırmalarda model organizmalar kullanılmaktadır. Zebra balığı 1930'lu yıllardan beri model organizma olarak kullanılan omurgalı bir türdür. (Kayhan, Kaymak, Esmerduru, Tartarkızılkaya, 2018). Zebra balığının sistematik sınıflandırılması Şekil 2.4'de gösterilmiştir.

24 saat içinde embriyogenez süreci gerçekleşmekte ve daha sonra beş gün içinde organ oluşumu tamamlanmaktadır. Bu durum deneylerde uygulanan maddelerin akıbetinin gözlenmesini kolaylaştırmaktadır (Kutluyer ve Aksakal, 2012). Koryon ve embriyosunun şeffaf olması diğer avantajlarından. Bu nedenle zebra balığının ilk larval aşamaları dışarıdan izlenebilmektedir. Haftada ortalama 200 yumurta ile yüksek üreme potansiyeline sahiptir. Bu açılarından da bilimsel alanda önemli bir balıktır (Kayhan ve diğerleri, 2018). Şekil 2.6’de zebra balığında biyoakümülyasyon ve etkileri gösterilmiştir.



Şekil 2.6. Zebra balığında biyoakümülyasyon ve etkileri (Bhagat ve diğerleri, 2020)

Genom dizilimleri bilindiği için, hastalıkların gelişimi, biyolojik ve fizyolojik süreçlerinin anlaşılabilmesine yardımcı olmaktadır. Deneysel açıdan birçok avantaja sahiptirler. Zebra balığı, genetik çalışmalar ve deneysel araştırmalarda omurgalı model organizma olarak sıklıkla kullanılmaktadır (Kayhan ve diğerleri, 2018). Mikroplastik araştırmalarda zebra balığı kullanımına ilişkin en erken çalışmanın, “mikroplastik” teriminin ortaya çıktığı neredeyse on yıl sonra olan 2015 yılında geldiği görülmüştür. Zebra balığının farklı yaşam formları, yani, embriyo, larva ve yetişkinler, çevresel kirleticilerin sudaki toksisite testi için yaygın olarak kullanılmaktadır (Bhagat ve diğerleri, 2020). Mikroplastik araştırmalarda zebra balığı kullanımına ilişkin en erken çalışmanın, “mikroplastik” teriminin ortaya çıktığı neredeyse on yıl sonra olan 2015 yılında geldiği görülmüştür. Zebra balığının farklı yaşam formları, yani, embriyo, larva ve yetişkinler, çevresel kirleticilerin sudaki toksisite testi için yaygın olarak kullanılmaktadır. İnsan genom yapıları ile zebra balıklarının genom yapıları %87 oranında benzemektedir (Huang ve diğerleri, 2021). Zebra balıkları 1.7

milyar baz çiftine sahiptir. Bu nedenle insanlar üzerinde çalışılmayan durumlarda model organizma olarak kullanılabilmektedirler. Zebra balığı genetik kontrolün özellikle embriyonik gelişimi sırasında sağlanabilmesi açısından da uygun bir organizmadır (Kayhan ve diğerleri, 2018).

2.6. Oksidatif Stres ve DNA Hasarı

Metabolik süreçte vücutta meydana gelen serbest radikaller, son derece etkin kimyasal ürünlerdir. Bunlara reaktif oksijen türleri (ROS) adı verilmektedir (Atmaca ve Aksoy, 2009). Bir veya daha fazla ortaklanmamış elektron içeren atom/atom grubu/ molekül serbest radikaller olarak tanımlanmaktadır. Kararsız bir yapı gösteren ve ömürleri kısa olan bu tanecikler etrafındaki moleküller ile etkileşime girerek bir an önce kararlı hale ulaşmak isterler (Büyüksulu ve Yiğitbaşı, 2015). Hidrojen (H) atomu ortaklanmamış bir elektrona sahiptir ve geçiş metal iyonlarının çoğu, oksijen (O_2) ve nitrik oksit (NO) ise ortaklanmamış iki elektrona sahiptir. Ortaklanmamış elektrona sahip olan Mn^{2+} , Fe^{3+} , Cu^{2+} ve gibi metaller serbest radikal oluşumuna aracılık ederler fakat serbest radikal olarak kabul edilmemektedirler. O_2 , radikal olmayan bileşikler ile daha yavaş reaksiyona girerken, serbest radikallerle kolayca reaksiyona girer (Aktan, 2018). Oksijenden oluşan radikaller biyolojik sistemlerdeki en önemli serbest radikallerdir. Oksijenin bir elektron alarak indirgenmesi ile ROS grubunda yer alan süperoksit radikali ($O_2^{\bullet-}$), iki elektron alması ile hidrojen peroksit (H_2O_2) oluşmaktadır (Büyüksulu ve Yiğitbaşı, 2015). Ayrıca oksijenin eşleşmemiş elektronları peroksinitrit ($ONOO^{\bullet-}$) ve hidroksil radikali ($OH^{\bullet}$) de dahil olmak üzere yüksek derecede reaktif türler oluşturmak için tepki vermektedir (Oliveira, Nogueira-Machado ve Chaves, 2010).

Geniş bir molekül yelpazesine sahip olan reaktif oksijen türleri, serbest radikal özelliği gösterenler ve radikal özellik göstermeyenler şeklinde sınıflandırılmıştır (Çizelge 2.2.)

Çizelge 2.2. Radikal ve radikal olmayan özellik gösteren bazı reaktif oksijen türleri (Büyükuslu ve Yiğitbaşı, 2015; Aktan, 2018)

Radikaller		Radikal olmayanlar	
Hidroksil	HO•	Ozon	O ₃
Peroksil	ROO•	Singlet oksijen	*O ₂
Alkoksil	RO•	Hidrojen peroksit	H ₂ O ₂
Süperoksit	O ₂ •—	Hipobromik asit	HOBr
Hidroperoksil	HOO•	Hipoklorik asit	HOCl

Serbest radikaller, hücrelerde endojen (iç) ve ekzojen (dış) kaynaklı etmenlere bağlı olarak oluşmaktadırlar. Endojen etmenlerin oluşumları, organizmada normal olarak meydana gelen oksidasyon ve redüksiyon reaksiyonlarıdır (Büyükuslu ve Yiğitbaşı, 2015). Serbest oksijen radikalleri ortamda oluştuğu zaman lipid peroksidasyonuna neden olarak hücre zarının akışkanlığında ve geçirgenliğinde değişiklikler meydana getirir (Schmidley, 1990).

Endojen kaynaklı etmenler;

a- Solunum

b- Ksenobiotik metabolizması

c- Doğal uyaranlarla fagositik hücrelerin aktivasyonu

d- Biosentez ve biodegradasyon prosesleri olarak sıralanabilmektedir (Andican, 2000).

Ekzojen kaynaklı etmenler çok çeşitli olup bunlar;

a-Biyolojik/biyokimyasal etmenler: Enfeksiyon, stres, virüsler

b- Kimyasal etmenler: Pestisitler, parakuat, parasetamol gibi ilaç toksikasyonları, alkoksan gibi kimyasalların etkisi altında kalma, karbon tetraklorür, hava kirliliği yapan fitokimyasal maddeler, trisiklik antidepresanlar, solventler gibi çevresel faktörler, sisplatin, ozon, karbon monoksit, nitrofurantoin, bleomisin, doksorubisin ve adriamisin gibi antineoplastik ajanlar, hiperbarik oksijen, ağır metaller, asbest lifleri, mineral tozlar, silika, aflatoxin B1 ve PCB'ler (poliklorlubifenil)

c- Fiziksel etmenler: İyonize ve ultraviyole radyasyon, sigara dumanı olarak sıralanabilmektedir (Atmaca ve Aksoy, 2009) .

Reaktif oksijen türlerinin hasar verme potansiyellerinin yüksek olmasından dolayı hızla metabolize edilmeleri önemli olmaktadır (Andican, 2000).

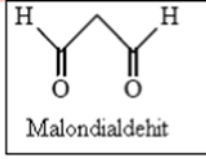
Metabolik yollarla vücutta doğal olarak oluşan serbest radikaller, radikal parçalayan antioksidan sistemlerle ortadan kaldırılmaktadır. Ancak, bu mekanizma çeşitli nedenlerle bozulmaktadır. Bunun sonucunda reaktif oksijen türleri artarak antioksidan mekanizmalar yetersiz kalmaktadır. Bunun sonucunda oksidatif stres adı verilen bir dizi patolojik olay meydana gelmektedir. Oksidatif stres, çeşitli mekanizmalar ile şeker ve baz modifikasyonları, tek ve çift zincir kırıkları, DNA-protein çapraz bağlanması gibi birtakım lezyonlara neden olarak DNA üzerinde hasara yol açmaktadır (Williams ve Jeffrey, 2000).

DNA hasarı, genetik materyalin moleküler bütünlüğünde endojen veya ekzojen etkiler nedeniyle meydana gelen tüm değişikliklerdir. Çevresel faktörler DNA'nın bütünlüğünü sürekli olarak tehdit etmektedir. DNA hasarı, hücre canlılığı süresince yaygın olarak görülen, kanser, mutasyon, yaşlanma ve en sonunda da hücre ölümüne yol açabilen bir olaydır. DNA, yaşam boyunca ekzojen faktörler ve hücre metabolitleri tarafından devamlı olarak değişimlere maruz bırakılmaktadır (Sancar, Boltz, Kaçmaz ve Linn, 2004).

Reaktif oksijen bileşikleri, DNA'da 20'den fazla oksidatif baz hasar ürününün oluşmasına yol açabilmektedir. Bu hasara uğrayan bazlar arasında oldukça duyarlı ve en sık karşılaşılan oksidatif DNA hasarı belirteci 8-hidroksi-2'-deoksiguanozin (8-OHdG) dir. DNA bileşenleri içerisinde oksidasyona en yatkın ve en düşük iyonizasyon potansiyeline sahip olan olan baz guanindir. 8-OHdG modifiye bir bazdır, reaktif oksijen türlerinin DNA'da yaptığı 20'den fazla oksidatif baz hasar ürününden biridir (Atmaca ve Aksoy, 2009).

2.6.1. Malondialdehit (MDA)

Normal koşullarda hücrelerde ve dokularda düşük seviyede oluşan ve oksijen kaynaklı serbest radikaller tarafından indüklenen lipid peroksidasyonu ile MDA, üç ya da daha fazla çift bağ içeren yağ asitlerinin peroksidasyonunda meydana gelmektedir (Sarıkaya, 2020). Şekil 2.7'da MDA'nın kimyasal formülü gösterilmiştir.



Şekil 2.7. MDA kimyasal formülü (Halliwell ve Gutteridge, 2007)

Malondialdehit seviyesinin yüksek bulunması, serbest oksijen radikallerinin etkisi ile artmış lipid peroksidasyonunu göstermektedir. Bu nedenle oluşan serbest radikallerin iyi bir göstergesi olarak kabul edilmektedir. Lipid peroksidasyonu, membranların ve organik yapıların fonksiyonları üzerine çok zararlı etkilere neden olmaktadır ve hücre ölümüne yol açacak kadar değişiklikler meydana getirmektedir (Polat, 2011). Hücre membranında bulunan doymamış yağ asitleri ve kolesterol bileşenleri serbest radikallerle kolayca tepkimeye girerler ve lipid peroksidasyonuna neden olurlar. Bunun sonucunda oluşan membran hasarı geri dönüşümsüzdür. Hücre membranının deformasyonu ise enzimatik fonksiyonların ve iyon geçişinin bozulmasına sebep olmaktadır. Ayrıca lipid radikalleri DNA ile de reaksiyona girerek DNA-MDA ürünlerini oluşturmaktadır (Sarıkaya, 2020). MDA hücre zarlarından kolayca geçebileceği için hücre içinde meydana gelen enzimatik olayları, protein sentezini ve DNA yapısını da olumsuz yönde etkilemektedir. MDA bu niteliklerinden ötürü genotoksik, mutajenik ve karsinojenik bir bileşik olarak değerlendirilmektedir (Sreejai ve Jaja, 2010).

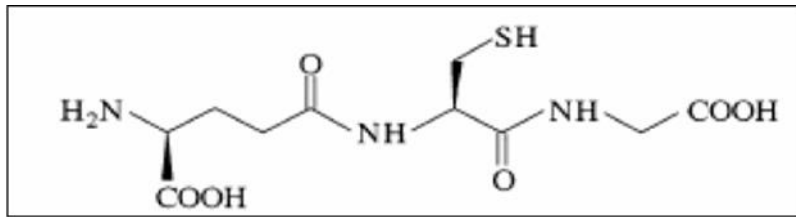
2.6.2. Glutasyon (GSH)

Serbest oksijen radikallerinin hedef dokulardaki olumsuz etkilerini, geciktiren, önleyen veya meydana gelen hasarın tamirini sağlayan maddelere antioksidanlar denilmektedir. Bu sisteme ise antioksidan savunma denilmektedir.

Oksijen radikali yakalayıcısı olarak glutasyon, antioksidan savunmada önemli bir biyobelirteçtir. Karaciger vücuttaki glutasyonun en önemli kaynağıdır (GSH düzeyindeki değişim, canlının detoksifikasyon yeteneğinin önemli bir göstergesi olmaktadır. GSH seviyesi, hücresel işlevlerin korunmasında önemlidir. GSH seviyesi detoksifikasyon ve oksidatif stres durumlarında azalabilmektedir (Kayhan ve diğerleri, 2017).

Glutasyon miktarının azalması ise antioksidan stokların azalması/tükenmesi olarak açıklanabilmektedir (Zhang, Shen, Wang, Wu, Xue, 2004). Ancak devam eden stres durumunda GSH/GSSG oranı adaptif mekanizmaların etkisi ile oksidatif strese karşı koyabilmek üzere artışa geçebilmektedir. GSH seviyeleri oksidatif stres durumunda önce azalmakta, daha sonra artabilmektedir. Bu nedenle de GSH çevresel kirliliğin etkilerinin belirlenmesinde kullanılan önemli bir biyobelirteçtir (Kayhan ve diğerleri, 2017).

Glutasyon, DNA sentezi ve hasarlı parçalarının onarılmasında önemli rol oynamaktadır. Aminoasit transportu, iskelet-kas bütünlüğü, peroksit metabolizması ve birçok enzim aktivitesinin düzenlenmesinden sorumlu olan antioksidatif nitelikte bir moleküldür (Şekil 2.8). GSH enzim değildir (Blokhina, Virolainen ve Fagerstedt, 2003). GSH, reaktif oksijen türlerine ve serbest radikallere karşı antioksidan olarak ve ksenobiyotik bileşiklerin detoksifikasyonunda çok yönlü fizyolojik işleviyle bilinmektedir (Sarıkaya, 2020).



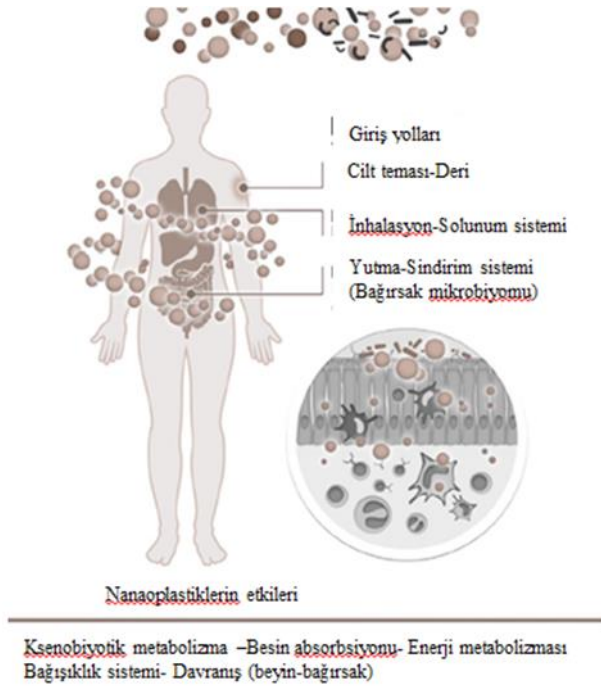
Şekil 2.8. Redükte glutasyon formülü (Halliwell ve Gutteridge 2007)

2.6.3. İleri oksidasyon protein ürünleri (AOPP)

İleri oksidasyon protein ürünleri oksidatif stresin bir belirteci olarak kullanılmaktadır. Bu reaksiyon ürünlerinin oksidatif hasarının güvenilir bir belirteci olarak, AOPP değerlerinin ölçümü Witko-Sarsat ve diğerleri (1996) tarafından önerilmiştir. Üremik hastalarda oksidatif strese neden olan antioksidan ve oksidan sistemler arasında bir dengesizlik olduğu görülmüştür. Plazma proteinleri oksidanlar için kritik hedefler olmaktadır. Gelişmiş biyokimyasal karakterizasyonda AOPP'nin oksitlenmiş plazma proteinlerinin özellikle albümin tarafından taşındığı ve oksidan özelliklere sahip olmadığı görülmüştür. AOPP seviyeleri, oksidan aracılı protein hasarının göstergeleri olarak ditirozin ve pentosidinin plazma konsantrasyonları ile korelasyon gösterdiği ve lipid peroksidasyon belirteçlerinden olan tiyobarbitürik asit ile korelasyon göstermediği tespit edilmiştir (Witko-Sarsat ve diğerleri 1996).

2.7. Mikroplastiklerin İnsan Sağlığı Üzerine Olası Etkileri

İnsanlarda, nanoplastiklerin zararlı etkileri ile ilgili fonksiyonel çalışmalar çok az sayıdadır. Ancak nanoplastik maruziyetin bazı varsayılan etkileri omurgalı hayvan modellerinden tahmin edilebilmektedir. Yıpranmış nano ölçekli polimerler ve çeşitli kaynaklardan gelen katkı maddeleri ve kirleticiler organizmaya esas olarak sindirim ve solunum sistemleri yoluyla veya epidermal yaralanmalarla girmektedir. Ancak dermal giriş hala tartışmalıdır. Nanoplastiklerin bağırsak veya pulmoner yüzeylere bağlandıktan sonra yerleşik bağışıklık hücrelerini aktive edebileceği, lokal enflamatuvar reaksiyonlara neden olabileceği, hücrelere zarar verebileceği ve bağırsak mikrobiyomunun bileşimini ve işlevselliğini bozabileceği düşünülmektedir (Teles, Balasch, Olivera, Saradans, Penuelas, 2020). Nanoplastiklerin insan vücuduna giriş yolları Şekil 2.9’da gösterilmiştir.



Şekil 2.9. Nanoplastiklerin insan vücuduna giriş yolları (Teles ve diğerleri, 2020)

Ayrıca nanoplastikler epitel tabakaları boyunca kan damarları ve lenfatik sistem ile taşınabilmektedir. Kan dolaşımına erişim, karaciğer ve böbrek gibi metabolik ve endokrin organlar, besin ve enerji yönetimi, ksenobiyotik işleme ve boşaltımın birleşik süreçlerini etkileyebilmektedir. Nanoplastiklere maruz kalmanın, nanoplastiklerin kan-beyin bariyerini geçme kabiliyeti ve bağırsak mikrobiyomu ile nöroendokrin yolları arasındaki karşılıklı etkiye bağlı olarak davranış değişikliklerini de tetikleyebileceği düşünülmektedir.

Bağırsak yüzeyinde plastik birikiminin uzun vadeli etkileri hakkında yeterli bilgi bulunmamaktadır. Ancak nanoplastiklerin mikrobiyom topluluklarının bileşimini ve çeşitliliğini etkilediği görülmüştür. Son on yılda, bağırsak ve beyin sinir ağları arasındaki etkileşimler üzerine yapılan araştırmalar, bağırsak mikrobiyotasının endokrin, bağışıklık ve sinir sistemleri üzerindeki etkisini kesin olarak belirlemiştir. Bağırsak mikroorganizmaları yeni doğanlarda bağışıklık sistemini neyin yararlı bir kommensal ve neyin istenmeyen bir patojenin olduğu konusunda eğitmekle kalmaz, aynı zamanda strese yanıt verir ve nihayetinde davranışı etkileyebilecek nörotransmitterlerin öncülerini üretirler. Yutulan plastik döküntülerin boyutunu küçültmenin ve nanoplastiklerin hidrofobik yapısının, endotel bariyerlerini geçme kapasitelerini arttırabileceği düşünülmektedir. Bu durum kırmızı kan hücrelerine veya enerjiye bağımlı taşınmaya kolay erişim veya hücre zarları ve stres hücrelerini geçme yeteneği anlamına gelmektedir. Nanopartiküllerin, bir kez yutulduktan sonra hücre içi boşluklar boyunca hücre içi taşıma yoluyla hareket edebileceği veya enterik M hücreleri tarafından lenfatik kılcal damarlara taşınabileceği, lenfoid dokulara ve sonunda kan damarlarına ulaşabileceği düşünülmektedir. Yutulan plastik parçalarının %90 kadarının atıldığı tahmin edilmektedir, ancak bağırsaktaki kalan artıklar sitotoksisteye, hücre döngülerini durdurmaya ve inflamatuvar reaksiyonların başlangıcında bağışıklık hücrelerinin reaktivitesinin artmasına neden olabilir. Nanoplastiklerin neden olduğu lokal yangının, gastrointestinal süreçlerin işlevselliğini tehlikeye atabileceği ve endokrin düzenlemelerini bozabileceği, mikrobiyom topluluklarına zarar vererek, disbiyoz veya anormal bağırsak mikrobiyota reaktivitesine yol açabileceği düşünülmektedir (Teles ve diğerleri, 2020).

Prata (2018), havada bulunan mikroplastikler üzerinde çalışmıştır. Son yıllarda Paris'in büyük bölümünde atmosferik serpintilerde mikroplastikler tespit edilmiştir. Küçük boyutları nedeniyle solunum yoluyla alınabilmektedirler. Bireysel duyarlılık ve partikül özelliklerine bağlı olarak solunum sisteminde lezyonlara neden olabilmektedirler. Havadaki mikroplastikler yeni bir konu olmasına rağmen, birkaç gözlemsel çalışma, özellikle maruz kalan işçilerde, genellikle hava yolu ve interstisyel inflamatuvar yanıtların neden olduğu dispne ile seyreden plastik liflerin ve partiküllerin bulunduğunu bildirmiştir. Çevresel konsantrasyonlar düşük olsa da duyarlı bireyler benzer lezyonlar geliştirme riski altında olabilir. Son araştırmalar, inhalasyondan sonra hastalıklara neden olan mikroplastiklerin atmosferimizde de bulunduğunu ve ekosistemleri serpinti yoluyla potansiyel olarak kirlettiğini göstermektedir. Toz yükü, oksidatif stres, translokasyon ve

gen mutasyonu mekanizmaları ile havadaki mikroplastikler, hava yolu ve interstisyel akciğer hastalıklarına neden olma potansiyeline sahiptir, genellikle yün, sentetik tekstil ve PVC içeren endüstrilerde meslek hastalıkları olarak tanımlanır. Bununla birlikte, düşük çevresel konsantrasyonlar, genel popülasyonda solunum ve kardiyovasküler hastalıkların görülme sıklığına katkıda bulunabilir. Ortaya çıkan bu kirleticilerin atmosferik konsantrasyonlarını netleştirmek için daha fazla araştırmaya ihtiyaç olduğu düşünülmüştür.

Leslie ve diğerleri (2022) çalışmalarında, besin zincirinde ve her yerde bulunan plastik parçacıklarının insan kanındaki varlığını araştırmışlardır. 22 sağlıklı gönüllüden alınan tam kan örneğinde ≥ 700 nm plastik parçacıkların ölçülmesi amaçlanmıştır. Donörlerin %77'sinin (22 kişiden $n = 17$ 'si) kanlarında ölçülebilir bir plastik parçacık kütlesi taşıdığı görülmüştür. En yaygın olarak üretilen dört polimer tanımlanmış ve ilk kez kanda tespit edilmiştir. Bu plastikler, PET, PE, stiren polimerleri (polistiren, genleştirilmiş polistiren vb) poli (metil metakrilat, PMMA) grubudur. PP analiz edilmiş ve değerlerin ölçüm limitlerinin altında olduğu görülmüştür. Küçük bir donör grubu üzerinde yapılan bu çalışmada, kandaki plastik parçacıkların toplam ölçülebilir konsantrasyonunun ortalaması $1,6 \mu\text{g/mL}$ olarak tespit edilmiştir. Kanda tespit edilen mikropilastik çeşitleri ve donörlerde görülme yüzdesi; PET (%50), PS (%36), PE (%23) ve PMMA (%5) olarak tespit edilmiştir. Bir örnekte maksimum konsantrasyonlar, PET $2,4 \mu\text{g/mL}$, PS $4,8 \mu\text{g/mL}$, PE $7,1 \mu\text{g/mL}$ olarak görülmüştür. Tek bir numunede en fazla üç farklı polimer tipi (PS, PE ve PET) ölçülmüştür.

Kan dolaşımında tespit edilen plastik parçacıkların muhtemelen yutma veya solunum yoluyla sisteme girdiği düşünülmektedir. 1 nm ile $20 \mu\text{m}$ arasındaki havadaki parçacıklar solunabilir kabul edilmektedir. $<0,1 \mu\text{m}$ boyutundaki parçacıkların akciğerde birikebilme potansiyeli bulunurken, daha büyük partiküllerin bir kısmının öksürükle dışarı atılması, bir kısmının ise yutulması sonucu bağırsak epiteli yoluyla ikinci bir absorpsiyon mekanizması oluşabilmektedir. Potansiyel maruz kalma yolları; hava, su, yiyeceklerin yanı sıra kişisel bakım ürünlerinde (diş macununda bulunan PE, dudak parlaticılarında bulunan PET) bulunan parçacıkların yutulması, dental polimerler, polimerik implant parçaları, polimerik ilaç taşıyıcı nanopartiküller (PMMA, PS) dövme mürekkebi kalıntıları vb. olarak düşünülmektedir (Leslie ve diğerleri, 2022).

3. MATERİYAL VE METOT

3.1. Zebra Balığı Temini ve Aklımasyon

Çalışmada 70 adet erişkin $237,31 \pm 73,82$ mg ağırlığında ve $3,03 \pm 0,36$ cm boylarında zebra balıkları (*Danio rerio* Hamilton, 1822) kullanılmıştır. Balıkların cinsiyet tayinleri yapılarak eşit sayıda dişi ve erkek olmasına dikkat edilmiştir. Deney balıkları akvaryum üreticisinden temin edilmiştir. Akvaryumlar, Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Ana Bilim Dalı Araştırma laboratuvarında hazırlanmıştır. Çalışma süresince cam damacana suyu kullanılmıştır.

Zebra balıkları deney ortamına adaptasyonunun sağlanması için deney başlamadan 15 gün önce 15 L'lik akvaryumlara alınmıştır (1 adet balık/ 1 L su oranında stoklanmıştır). Hava motorları ile havalandırılan akvaryumlarda günlük sifonlamaları yapılarak, yem ve dışkı atıkları uzaklaştırılmıştır. Uygun yemle (Novobits) beslenen deney zebra balıkları, ayrıca türün normal davranışları yönünden izlenmiştir (Resim 3.1). Çalışma, deney hayvanları araştırma etiği çerçevesinde incelenmiş olup, Gazi Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Yönergesindeki ilkelerine uygun bulunmuştur (Etik kurul karar no: 08.07.2019-E.84963).

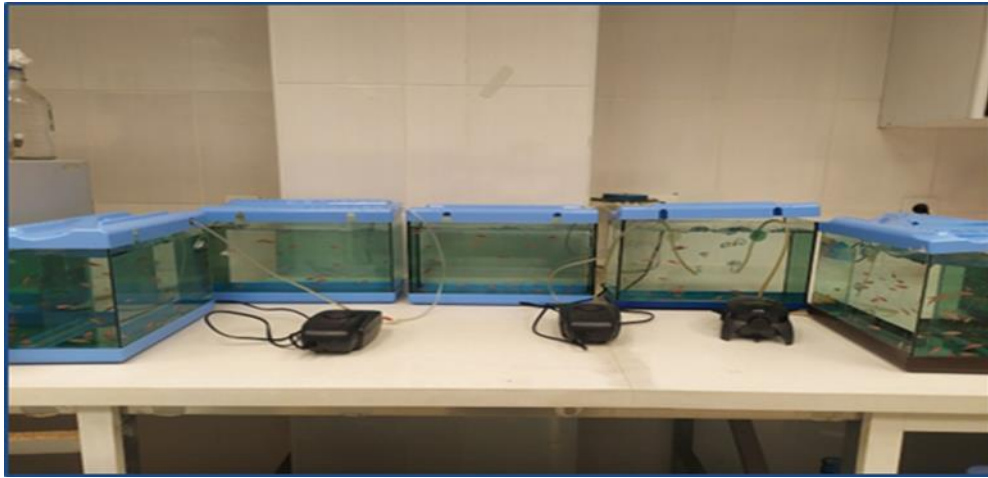


Resim 3.1. Adaptasyon akvaryumu

Akvaryumlarda su sıcaklığı $22\pm1^{\circ}\text{C}$ 'de olarak ölçülmüş, 14 saat aydınlık, 10 saat karanlık olacak şekilde fotoperiyot uygulanmıştır.

3.2. Deney Akvaryumlarının Hazırlanması ve Mikroplastik Dozlanması

Adaptasyon süresi sonunda 10 L'lik 5 adet akvaryuma rastgele seçilen 14'er adet zebra balığı yerleştirilmiştir. Havalandırma düzenekleri kurulmuştur (Resim 3.2).



Resim 3.2. Deney düzeneği

Çalışma süresince akvaryum sularının pH değerleri ölçülmüştür. Deney akvaryumları, hava motorları yardımıyla sürekli havalandırılmış ve termostatl ısıtıcılar vasıtasıyla su sıcaklığı sabit tutulmuştur. Yarı statik yöntemle devam edilen deneylerde, 48 saatte bir deney ortamı yenilenerek metabolizma atıkları sucul canlılar için toksik olan azotlu bileşiklerin ortamdan uzaklaştırılması sağlanmıştır. Çizelge 3.1'de mikroplastik uygulaması gösterilmiştir.

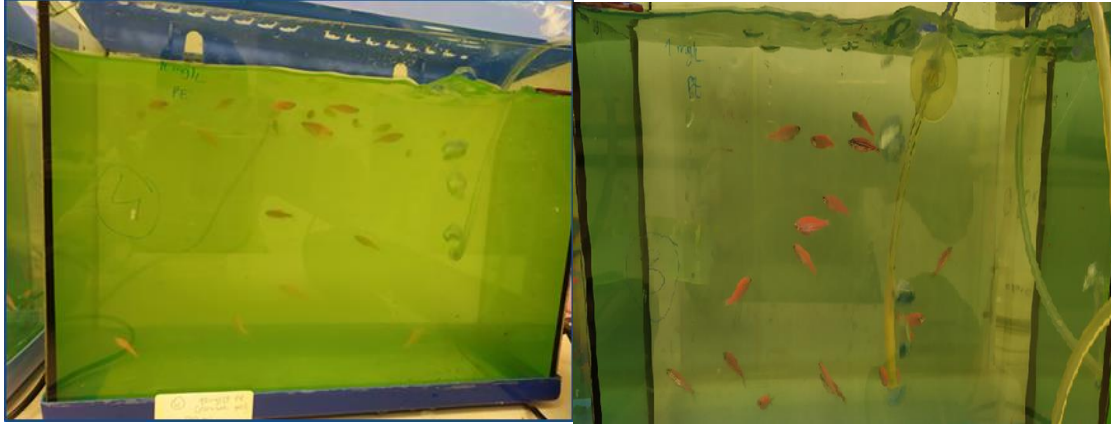
Çizelge 3.1. Akvaryum numaraları ve mikroplastik uygulaması

Akvaryum no	Mikroplastik	Doz
1	PS (9,5- 11,5 μm)	1mg/L
2	PS (9,5- 11,5 μm)	10 mg/L
3	PE (1-5 μm)	1 mg/L
4	PE (1-5 μm)	10 mg/L
5	Su-Kontrol	-

Deney kimyasalı olarak Sigma-Aldrich firmasından temin edilen 1-5 μm PE ve 9,5- 11,5 μm PS olmak üzere 2 farklı mikropplastik kullanılmıştır. Plastik materyalin öncelikle sonikatör yardımıyla suda dağılımı sağlanmış ve havalandırma düzeneği ayarlanarak da suda dağılımı desteklenmiştir. Deney konsantrasyonları literatürde daha önce yapılan çalışmalara göre belirlenmiştir. (Zhang ve diğerleri, 2019; Bhagat, Zang, Nishimura ve Shimada, 2020; Zhao Bao, Wan, Fu ve Jin, 2020; Jeyasanta, Sathish, Patterson ve Edward, 2020; Guerrera ve diğerleri, 2021).

Stok çözelti hazırlanması ve dozlama:

- 1- 10 mg PS hassas terazide tartılarak distile su ile 60 mL'ye tamamlanmıştır. Daha sonra sonikatör kullanılarak çözünmesi sağlanmış ve 1 mg/L'lik çözelti hazırlanmıştır. Akvaryum içerisinden 60 ml su alınmasını takiben stok çözelti akvaryuma eklenerek dozlama yapılmıştır. Havalandırma düzeneği ayarlanarak suda dağılımı desteklenmiştir.
- 2- 100 mg PS hassas terazide tartılarak distile su ile 160 mL'ye tamamlanmıştır. Daha sonra sonikatör kullanılarak çözünmesi sağlanmış ve 10 mg/L'lik çözelti hazırlanmıştır. Akvaryum içerisinden 160 ml su alınmasını takiben stok çözelti akvaryuma eklenerek dozlama yapılmıştır. Havalandırma düzeneği ayarlanarak suda dağılımı desteklenmiştir.
- 3- 10 mg PE hassas terazide tartılarak distile su ile 60 mL'ye tamamlanmıştır. Daha sonra sonikatör kullanılarak çözünmesi sağlanmış ve 1 mg/L'lik çözelti hazırlanmıştır. Akvaryum içerisinden 60 mL su alınmasını takiben stok çözelti akvaryuma eklenerek dozlama yapılmıştır. Havalandırma düzeneği ayarlanarak suda dağılımı desteklenmiştir.
- 4- 100 mg PE hassas terazide tartılarak distile su ile 250 mL'ye tamamlanmıştır. Daha sonra sonikatör kullanılarak çözünmesi sağlanmış ve 10 mg/L'lik çözelti hazırlanmıştır. Akvaryum içerisinden 250 mL su alınmasını takiben stok çözelti akvaryuma eklenerek dozlama yapılmıştır. Havalandırma düzeneği ayarlanarak suda dağılımı desteklenmiştir. Resim 3.3'de akvaryumlar gösterilmiştir.



Resim 3.3. Polietilen (PE-10 mg/L ve 1 mg/L)

3.3. Deney Yöntemi

Deneylerde yarı statik deney yöntemi kullanılmış ve 96 saat ve 21 gün maruziyet süreleri uygulanmıştır. Mikroplastik çözeltileri suya eklendikten sonra akvaryumlar izlenmeye alınmış ve balıklar günlük olarak kontrol edilmiştir. 96 saat sonuna kadar balıklar beslenmemiştir. 21 günlük maruziyet süresince 3 gün yemlenmeyip 4. günde yem verilmiştir. Akvaryum suyunda pH, iletkenlik, suda çözünmüş oksijen ve sıcaklık gibi etkenler deney sürecinde 3 günde bir ölçülmüştür (Çizelge 3.2).

Çizelge 3.2. Akvaryum suyu ölçüm değerleri

Su Kalitesi Parametreleri	Değerler
pH	7,34±0,20
Çözünmüş oksijen (DO) (mg/L)	8,15±0,40
İletkenlik (C) (µS/cm)	137,1±1,21
Toplam çözünmüş katı (TDS) (mg/L)	2,88±0,87
Sıcaklık (°C)	22±1

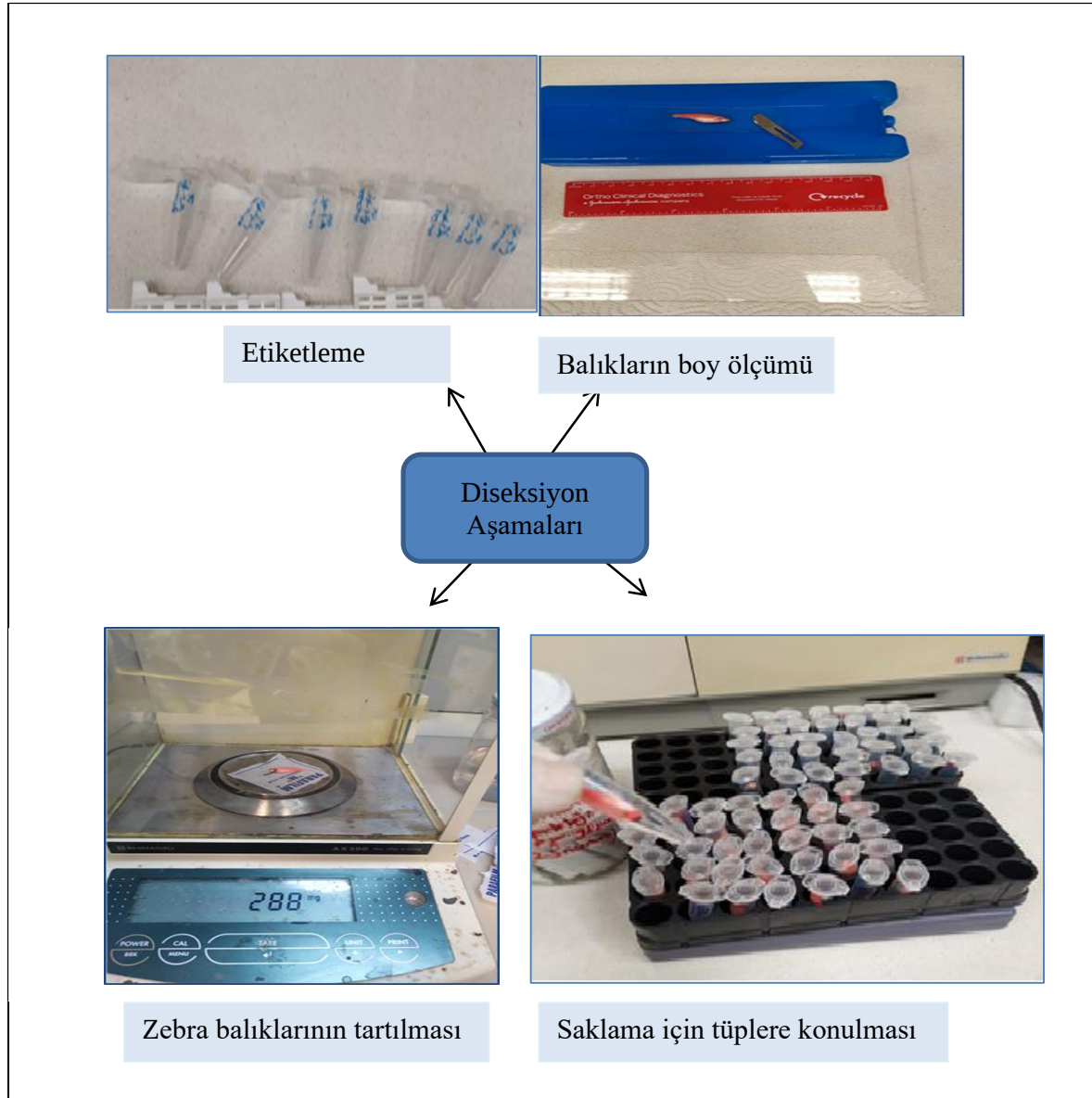
Kullanılan Cihazlar ve Malzemeler:

- Hassas terazi: KERN PCB 350, Shimadzu Ax200
- Santrifüj : Eppendorf minispin plus mikrosantrifüj (Almanya)
- İnkübasyon cihazı: Thermomixer comfort (Eppendorf) (Almanya)
- Spektrofotometre: Biochrom Libra S22 (İngiltere)
- Plate okuyucu: EL x 800 UV(Universal Microplate Reader) Biotek, (USA)
- Plate çalkalayıcı inkübasyon: BIOSAN multi bio 3D (Letonya)

- Nanodrop spectrophotometer: ND-1000 Thermo Scientific (USA)
- Vortex: Biosan
- Mikropipetler: Acura 825 autoclavable (10-100 μ l, 20-200 μ l), Socorex 10, 100, 1000 μ L (İsviçre)
- Kit: Cayman DNA/RNA Oksidatif Hasar EIA (Ürün No: 589320)
- Ependorf tüp
- Bistüri
- Lamel
- Deney tüpü

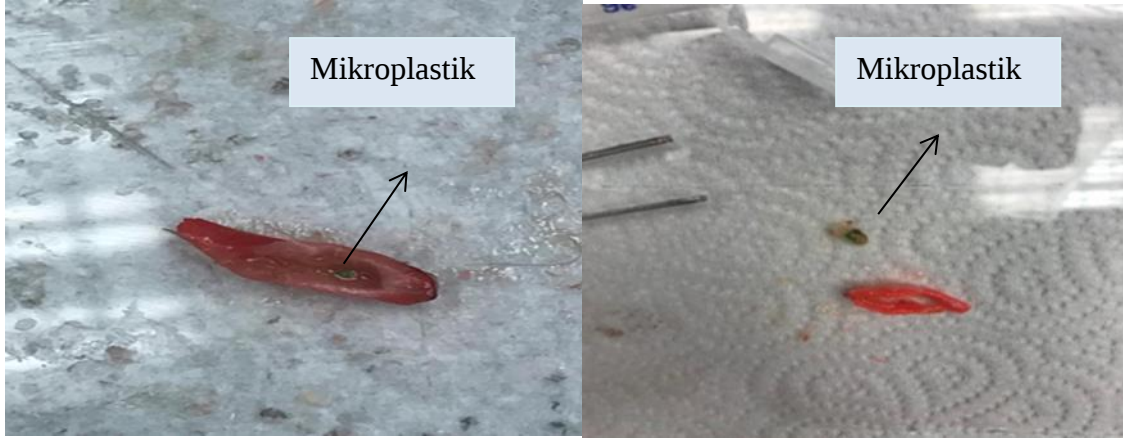
3.4. Mikroplastik Maruziyet Sonrasında Yapılan Analizler

96 saat ve 21 günlük süreler sonunda deney zebra balıkları buz anestezisi ile dekapite edilmiştir. Boyları ve ağırlıkları ölçülmüştür. Bu aşamada kullanılan bistüri, lamel vb. malzemeler her bir balık için distile su ile temizlenerek kullanılmıştır. Baş ve kuyukları ayrılarak analizler için ependorf tüplere ayrı ayrı konulmuştur (Resim 3.4).



Resim 3.4. Zebra balıklarından numune alınması

Örnekler -80°C 'de saklanmıştır. Diseksiyon esnasında floresanlı MP uygulanan balıklarda makroskopik olarak da iç organlarında mikroplastik parçaları gözlenmiştir (Resim 3.5).



Resim 3.5. 96 saat süre ile 1 mg/L PE maruz kalan zebra balıklarının iç organlarında görülen mikroplastik parçaları

3.5. Biyokimya Doku Analizleri için Homojenat Hazırlanması

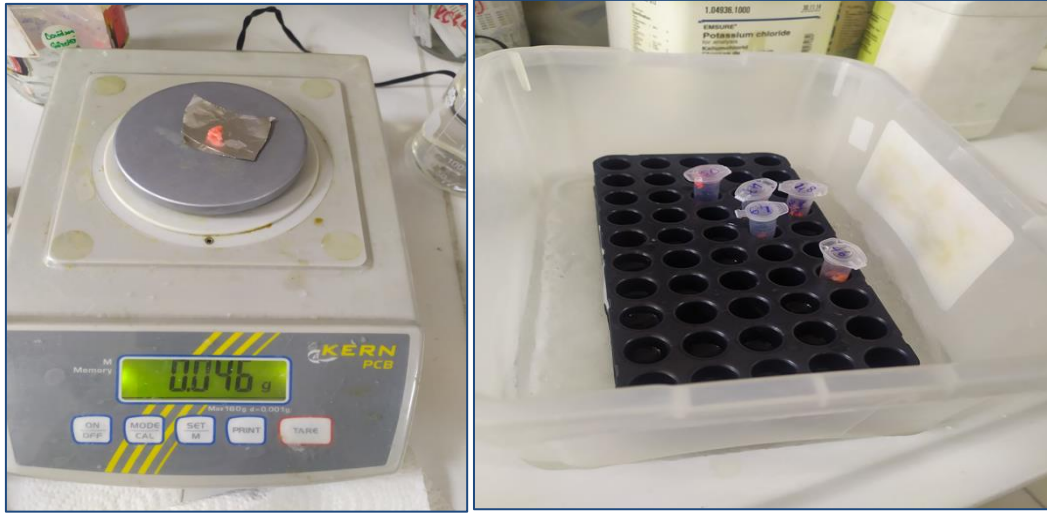
Zebra balıklarından tüm doku olarak örnekleme yapılmış ve GSH, MDA ve AOPP tayini için farklı uygun doku homojenizasyon çözeltileri hazırlanmıştır (Çizelge 3.3.).

Tüm analizler çift çalışılmıştır.

Çizelge 3.3. MDA, GSH ve AOPP tayini için doku homojenizasyon çözeltileri

MDA	GSH	AOPP
1,15 mg potasyum klorid (KCL) tartılmıştır.	6,74 mL orto-fosforik asit (H_3PO_4 -%85) pipetle çekilmiştir.	200 mL fosfat tamponu hazırlanmıştır (pH:7)
Distile su (dH_2O) ile 100 mL'ye tamamlanmıştır.	dH_2O eklenerek 200 mL'ye tamamlanmıştır.	400 μ L tampon çözelti numunelere eklenmiştir.
%1,15'lik tampon çözeltiden 450 μ L numunelere eklenmiştir. (Numune=18,97 mg)	Potasyum hidroksit (KOH) kullanılarak pH=8.02 ayarlanmıştır. (Numune=18,06 mg)	(Numune=16,40 mg)

Dokular hassas terazi ile tartılarak MDA, GSH ve AOPP etiketlemesi yapılmış olan ependorflara konulmuştur (Resim 3.6). Daha sonra hazırlanan tampon çözeltiler (örnek doku ağırlıkları 100 mg altında olduğundan doku ağırlığına göre tampon miktarı hesaplanmıştır) mikropipet yardımıyla ependorflara eklenmiştir. Çalışma sırasında dokuları korumak için buz üzerinde çalışılmasına dikkat edilmiştir.



Resim 3.6. Doku tartımı ve ependorf tüplere konulması

Doku-çözelti karışımında doku parçası kalmayacak şekilde homojenizasyon yapılmış ve bu aşamada da buz ile çalışmaya dikkat edilmiştir. Homojenize olan örnekler ependorflara alınarak santrifüj edilmiştir. MDA için hazırlanan homojeneta santrifüj aşaması uygulanmamıştır. AOPP tayini için hazırlanan doku homojenatı 5000 rpm ve +4 °C'de 10 dakika, GSH tayini için hazırlanan doku homojenatı ise 3500 rpm ve +4 °C' de 10 dakika boyunca santrifüj edilmiştir. Santrifüj işleminden sonra pelet kısmı atılmış süpernatantlar etiketlenen yeni ependorflara aktarılmıştır. İşlemi bitmiş ve daha sonra okuması yapılacak olan ependorflar -80°C' de saklanmıştır.

3.5.1. Doku MDA düzeylerinin ölçümü

Prensip: Lipit peroksidasyon ölçüm metodu olan Mihara ve Uchiyama (1978) metodu uygulanarak yapılmıştır. Tiyobarbitirik asit ile 90-95°C'de reaksiyona giren malondialdehit, pembe renkli kromojen oluşturmaktadır. Tüpün üst kısmındaki n-butanol fazı spektrofotometrede okutulmuştur.

Reaktifler:

- %0,6'lık tiyobarbitürik asit (TBA)
- %1'lik fosforik asit
- n-butanol

Deney aşamaları:

- Homojenatlar -80 °C'den çıkartılıp oda sıcaklığında çözündürüldükten sonra vortex işlemi uygulanmıştır.
- Her örnekten mikropipet ile 100 µL alınarak cam tüplere konulmuştur.
- Üzerlerine 3 mL %1 lik fosforik asit 1 mL tiyobarbitürik asit (TBA) (%0,6) eklenerek cam tüpler vortexlenmiştir.
- Ağız kısımları kapatılan tüpler 1,5 saat kaynar su banyosunda 90°C inkübe edilmiştir.

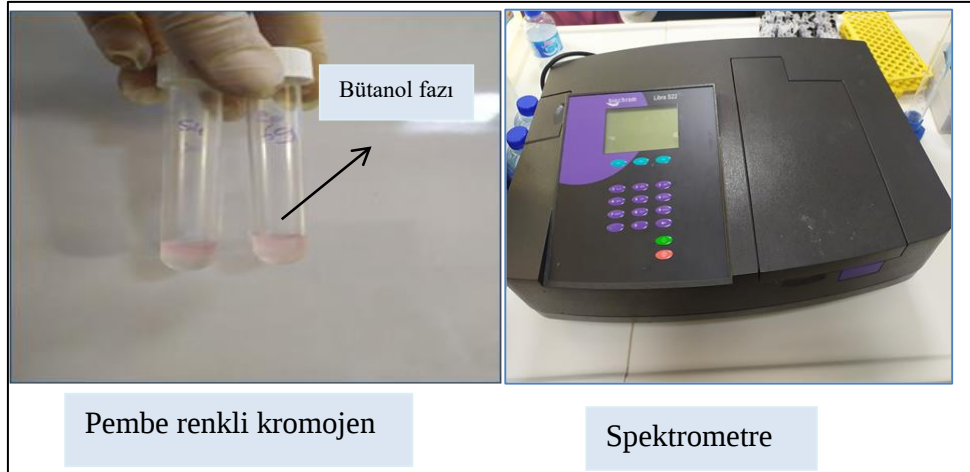


Resim 3.7. Vortex, kaynar su banyosu ve soğutma

- Süre sonunda tüpler sporlara alınarak soğumaya bırakılmıştır (Resim 3.7).
- Daha sonra 4 mL n-butanol eklenmiş, tüpler plastik kapakla kapatılarak 3000 rpm +4 °C' de 5 dakika santrifuj edilmiştir.
- Bütanol fazdan 700 µL mikropipetlerle alınarak (her örnekte uçlar değiştirilmiştir) spektrofotometre okuma küvetlerine aktarılmıştır.
- UV spektrometrede A1= 535 nm ve A2=520 nm'de okutulmuştur.
- Sonuçlar nmol/g doku proteini olarak ifade edilmiştir.

Hesaplama:

Absorbans farkı= nmol/g doku TBA



Resim 3.8. Kromojen ve spektrometre cihazı

3.5.2. Doku GSH düzeylerinin ölçümü

Prensip: İndirgenmiş glutatyonun sülfidril ($-SH$) gruplarının bazik ortamda 2,2'-dinitro-5,5'ditiobenzoik asit (DNTB) ile sarı renkli bir bileşik oluşturması ve bu bileşiğin renginin 420 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak ölçülmesi esasına dayanmaktadır (Ellman, 1959).

Deneyin yapılışı:

- Homojenatlar $-80^{\circ}C$ 'den çıkartılıp oda sıcaklığında çözündürüldükten sonra vortex işlemi uygulanmıştır.
- Tampon çözelti 1M, pH 8.0 olacak şekilde hazırlanır; 500 mL K_2HPO_4 (dipotasyum hidrojen fosfat) ve 500 mL KH_2PO_4 (monopotasyum hidrojen fosfat) çözeltileri hazırlanarak sırasıyla, 47 mL ve 3 mL karışım, dH_2O ile 500 mL ye tamamlanmıştır.
- Daha sonra 200 mL DTNB (5,5 Dithiobis- 2-nitro benzoik asid) çözeltisi, $KHCO_3$ (potasyum hidrojen karbonat) ile hazırlanmıştır.



Resim 3.9. Tampon kimyasalları ve ependorf içinde hazırlanan örnekler

- Spektrofotometrede kör için küvete 300 μ L distile su, 300 μ L tampon ve 2400 μ L DTNB eklenmiştir.
- Numune küvetlerine, 100 μ L distile su, 300 μ L tampon ve 2400 μ L DTNB eklenmiştir.
- A1= 410 nm’de numune eklenmeden ilk okumaları yapılmıştır.
- Daha sonra küvetlere 200 μ L numune eklenmiştir. Her örnek için pipet ucu değiştirilmiştir.
- Numunelerin A2=420 nm’de spektrofotometrik olarak okumaları yapılmıştır.

Sonuçlar μ mol GSH/ g doku olarak verilmiştir.

3.5.3. Doku AOPP düzeylerinin ölçümü

Prensip: Doku homojenatında bulunan uzun ömürlü klorlu oksidanlar ile proteinlerin çapraz bağlama ürünlerinin, potasyum iyodürü oksitlemesi ve açığa çıkan triiyodid iyonunun, 340 nm’ de ölçülmesi esasına dayanmaktadır.

Serum AOPP düzeylerinin ölçümü Witko-Sarsat ve diğerlerinin (1998) tanımladığı spektrofotometrik yöntemle yapılmıştır. Bu yöntemle göre; AOPP oluşumu klorlu oksidanların (kloraminler ve hipokloröz asit gibi) oluşumu ile indüklenmektedir. Bu sebeple konsantrasyonu da bunlara korele olarak değişir. AOPP konsantrasyonu ölçümünde bu ilişki nedeni ile Kloramin - T standart olarak kullanılmıştır.

Reaktifler:

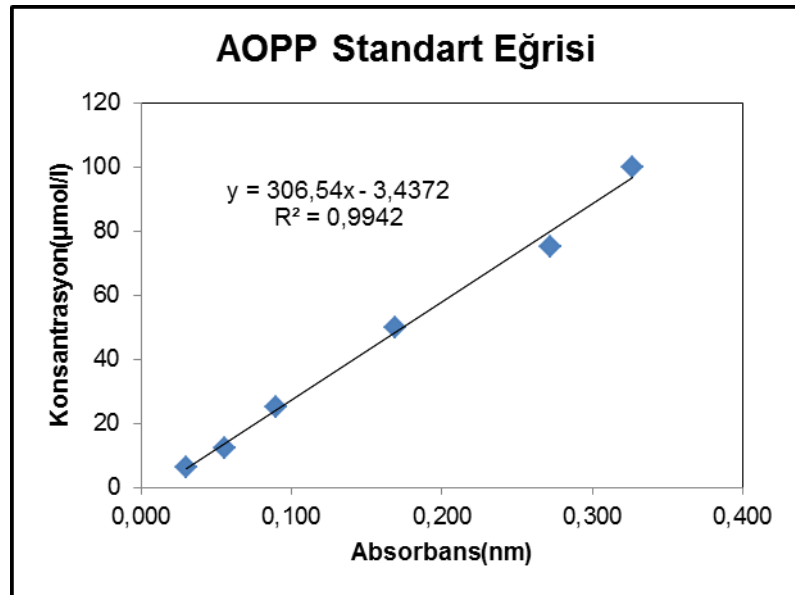
- 20 mM fosfat tamponu, pH: 7,4
- 1.16 M KI (Potasyum iyodür)
- Asetik asit %100
- Kloramin-T (0-100 μmol arasındaki konsantrasyonlarda standart olarak hazırlanmıştır)

Deneyin yapılışı:

- 200 μl serum 1:5 oranında fosfat tamponu ile dilüe edilmiştir.
- Linearite sınırı üzerine çıkılmayan durumda, 40 μL serum üzerine 160 μL PBS reaktifi eklenip üzerine 10 μL KI ve 20 μL asetik asit eklenerek numuneler vortekslenmiştir.
- 340 nm absorbansta fosfat tamponuna karşı spektrofotometrik olarak ölçüm yapılmıştır.
- 100 $\mu\text{mol/L}$ 75 $\mu\text{mol/L}$, 50 $\mu\text{mol/L}$, 25 $\mu\text{mol/L}$, 12,5 $\mu\text{mol/L}$, 6,25 $\mu\text{mol/L}$ 'lik Kloramin-T standartları da numune gibi çalışılmıştır.
- Linearite sınırının üzerinde çıkan serumlar dilüe edilerek çalışılmıştır.

Hesaplama:

Sonuçlar standart eğri üzerinden (Şekil 3.1) hesaplanarak, $\mu\text{mol/L}$ kloramin eş değeri olarak ifade edilmiştir.

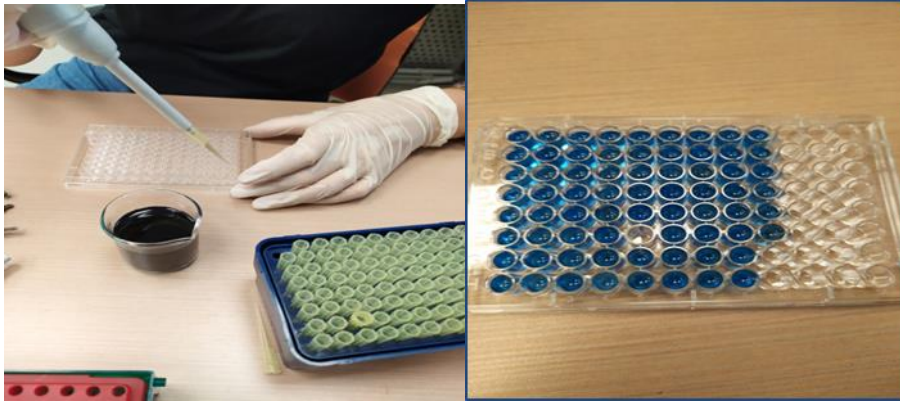


Şekil 3.1. AOPP standart eğrisi

AOPP için hazırlanan doku homojenatından protein düzeyi de çalışılmıştır.

3.5.4. Protein miktar tayini

- Bradford çözeltisi: Genellikle 470 nm dalga boyuna sahip coomassie brilliant blue G-250'dan oluşur ve çözelti içindeki protein miktarına göre gittikçe koyulaşan bir mavi renk vermektedir. Genel anlamda coomassie brilliant blue G-250, çözelti içerisindeki proteinlere bağlanarak 470 nm dalga boylu mavi renge dönüşmektedir (Bradford, 1976).



Resim 3.10. Numunelerin mikropalakaya alınması ve Bradford çözeltisinin eklenmesi

- Protein tayini için homojenattan 25 μ L alınmıştır. Numuneler mikropalakaya pipetlendikten sonra, üzerlerine 100 μ L Bradford çözeltisi eklenmiştir (Resim 3.10).
- Mikropalaka oda sıcaklığında 10 dakika inkübe edilmiştir (Resim 3.10).
- İnkübasyon aşamasında mikropalakadaki numune ve çözeltinin çalkalayıcıda karışımı sağlanmıştır (Resim 3.11).
- Hazırlanan örneklerin 490 nm'de absorbansları okunmuştur (Resim 3.11).
- Elde edilen veriler rapor edilmiştir.



Resim 3.11. Çalkalayıcıda inkübasyon ve plate okuyucu

3.5.5. DNA hasar tayini

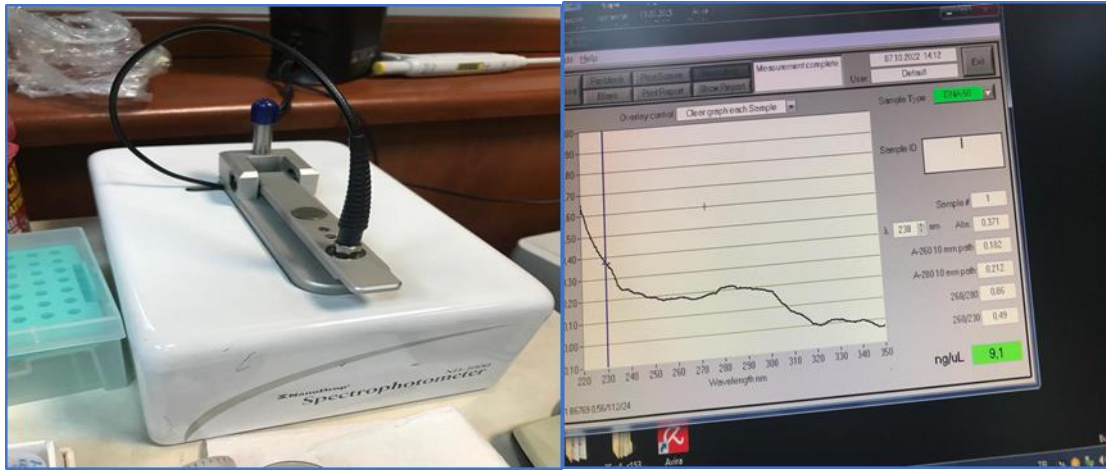
- Uygun balık dokusundan DNA izolasyonu yapılmıştır.
- Yeterli DNA elde edilip edilmediği jelde görüntülenerek tespit edilmiştir. Nanodrop kullanılarak miktar tayini yapılmıştır.
- Elde edilen DNA nükleaz p1 ve alkalen fosfataz ile hidroliz edilerek DNA/RNA oksidatif hasarı (8-OHdG) tayini enzim immün yöntem prensibini içeren kit ile yapılmıştır.

Deneyin bu aşamasında Cayman DNA/RNA Oksidatif Hasar EIA (Ürün No: 589320) ticari kit kullanılmıştır.

3.5.6. DNA ekstraksiyonu

- Sıvı nitrojende dondurularak -80°C 'de saklanan deney zebra balık örneklerinden Thermo-fisher marka DNA ekstraksiyon ticari kiti kullanılarak DNA izolasyonu yapılmıştır.
- Doku örnekleri 0,25 gram olarak boncuklu tüplere aktararak üzerlerine 700 μL TD1 tamponu ve 20 μL proteinaz K eklenmiştir.
- 10 dakika süreyle maksimum hızda vortekslenmiştir.
- Tüpler oda ısısında 10000 g.de 1 dakika boyunca santrifüj edilmiştir. Takiben süpernatant kısmı kolon tüplere aktarılmış, bunun üzerine 400 μL TD2 tamponu eklenmiştir.

- 10000 g.de 1 dakika santrifüj edilmiştir.
- Alttaki toplama tüpü atılıp kolon tüpler temiz ependorf tüplerin içine konulmuştur.
- Kolon tüplere 50 μ L TD3 tamponu eklenmiş ve 10000 g. de 1 dakika santrifüj edilmiştir.
- Kolon tüpler atılarak alttaki ependorf tüplerde toplanan DNA miktarları nanodropta ölçülmüştür (Resim 3.12).



Resim 3.12. Nanodrop ve DNA ölçüm grafiği

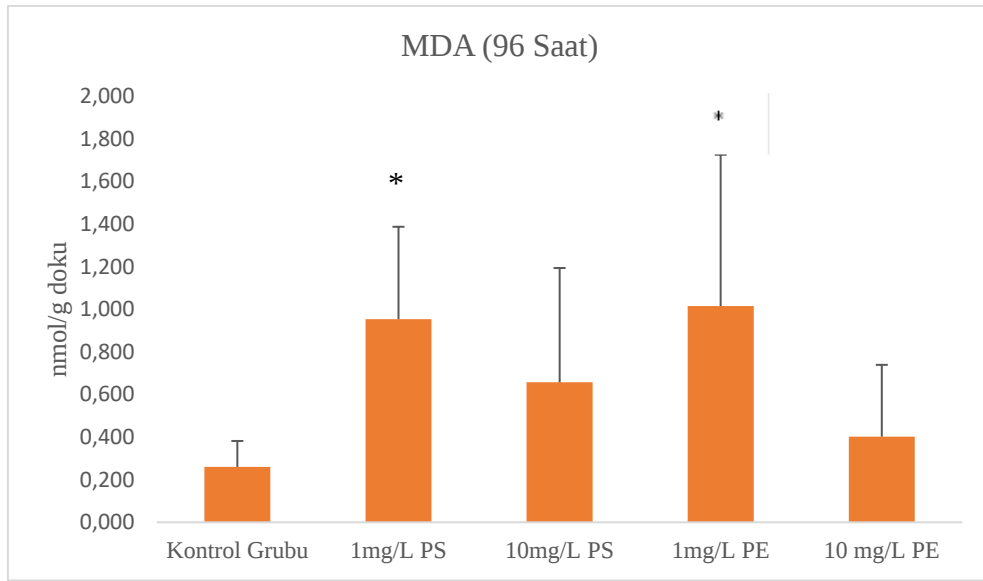
3.6. Veri Analizi

Verilerin analizine geçilmeden önce normal dağılıma ilişkin testler yapılmıştır. Normallik varsayımının sınanmasında, örneklem sayısı 50'den az olmasından dolayı, Shapiro-Wilk testi kullanılmıştır. Shapiro-Wilk Testi sonuçlarına göre istatistik değerlerinin p anlamlılık düzeyi 0,05'ten büyük olmasından dolayı normallik varsayımının sağlandığı görülmüştür. Dolayısıyla grupların karşılaştırılmasında ilişkisiz örneklem için t testi kullanılmıştır. Gruplar arası farkların istatistiksel anlamlılık düzeyi $p < 0,05$ olarak kabul edilmiştir. Nicel verilerin analizinde, SPSS 21 ve grafiksel gösterimler için ise Microsoft Excel'den yararlanılmıştır.

4. BULGULAR

4.1. Doku MDA Düzeylerinin Ölçüm Değerleri

Zebra balıklarının 1 mg/L ve 10 mg/L PS ve PE ile 96 saat maruziyet sonrası MDA değerleri Şekil 4.1 ve Çizelge 4.1’de gösterilmiştir.



Şekil 4.1. Polistiren (PS) ve polietilenin (PE) 96 saat maruziyet MDA değerleri

- 1 mg/L PS grubundan elde edilen MDA değerleri ile kontrol grubundan elde edilen MDA değerleri arasında, 1 mg/L PS grubunda görülen artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p=0,008$).
- 10 mg/L PS grubundan elde edilen MDA değerleri ile kontrol grubundan elde edilen MDA değerleri karşılaştırıldığında 10 mg /L PS grubunda görülen artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p=0,137$).
- 1 mg/L PE grubundan elde edilen MDA değerleri ile kontrol grubundan elde edilen MDA değerleri arasında, 1 mg/L PE grubunda görülen artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p=0,041$).
- 10 mg/L PE grubundan elde edilen MDA değerleri ile kontrol grubundan elde edilen MDA değerleri karşılaştırıldığında 10 mg/L PE grubunda görülen artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p=0,395$).

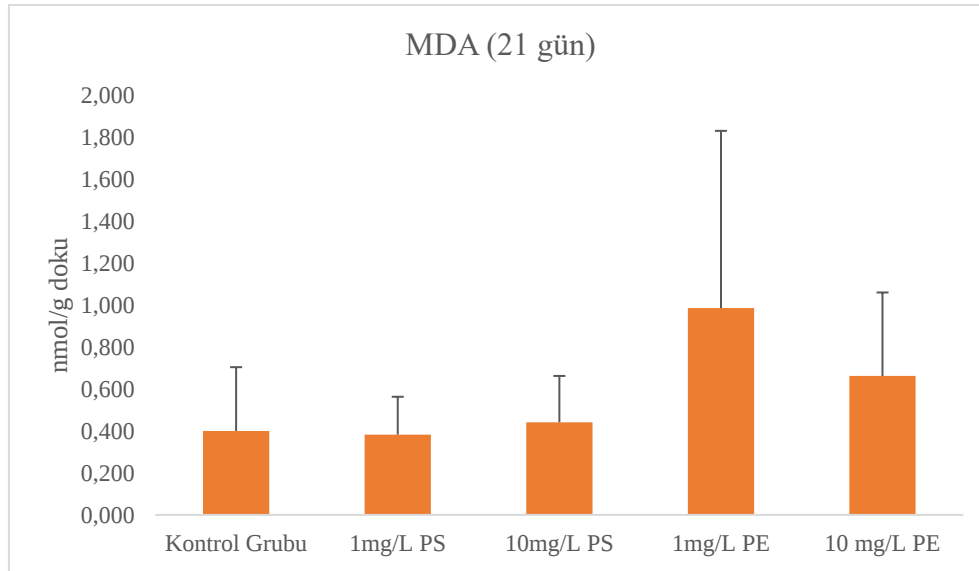
Çizelge 4.1. Maruziyet süresine göre MDA değerleri

n=7/grup	Süre	
Deney Grubu	96 Saat	21 Gün
Kontrol	0,26±0,12	0,40±0,30
1mg/L PS	0,95±0,43*	0,38±0,18 (n=6)
10mg/L PS	0,66±0,54	0,44±0,22
1mg/L PE	1,01±0,71*	0,99±0,84
10 mg/L PE	0,40±0,34	0,66±0,40

Her bir gruba ait veriler ortalama ± standart sapma şeklinde verilmiştir.

* Kontrol grubuna kıyasla $p < 0,05$ düzeyinde anlamlı farklılaşmayı ifade etmektedir.

Zebra balıklarının 1 mg/L ve 10 mg/L PS ve PE ile 21 gün maruziyet sonrası MDA değerleri Şekil 4.2 ve Çizelge 4.1’ de gösterilmiştir.

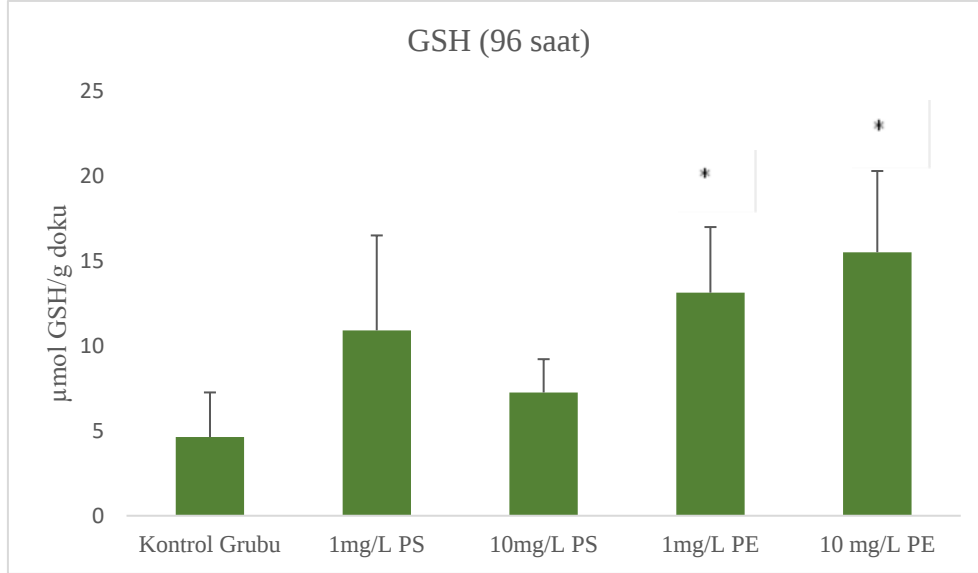


Şekil 4.2. Polistiren (PS) ve polietilenin (PE) 21 gün maruziyet MDA değerleri

- 1 mg/L PS ve 10 mg/L PS gruplarından elde edilen MDA değerleri ile kontrol grubundan elde edilen MDA değerleri karşılaştırıldığında bu gruplarda görülen artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p=0,923$, $p=0,817$).
- 1 mg/L PE ve 10 mg/L PE gruplarından elde edilen MDA değerleri ile kontrol grubundan elde edilen MDA karşılaştırıldığında bu gruplarda görülen artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p=0,215$, $p=0,303$).

4.2. Doku GSH Düzeylerinin Ölçüm Değerleri

Zebra balıklarının 1 mg/L ve 10 mg/L PS ve PE ile 96 saat maruziyet sonrası GSH değerleri Şekil 4.3 ve Çizelge 4.2’de gösterilmiştir.



Şekil 4.1. Polistiren (PS) ve polietilenin (PE) 96 saat maruziyet GSH değerleri

- 1 ve 10 mg/L PS gruplarından elde edilen GSH değerleri ile kontrol grubundan elde edilen GSH değerleri karşılaştırıldığında bu gruplarda görülen artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p=0,059$, $p=0,101$).
- 1 mg/L PE grubundan elde edilen GSH değerleri ile kontrol grubundan elde edilen GSH değerleri arasında, 1 mg/L PE grubunda görülen artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p=0,04$).
- 10 mg/L PE grubundan elde edilen GSH değerleri ile kontrol grubundan elde edilen GSH değerleri arasında, 10 mg/L PE grubunda görülen artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p=0,04$).

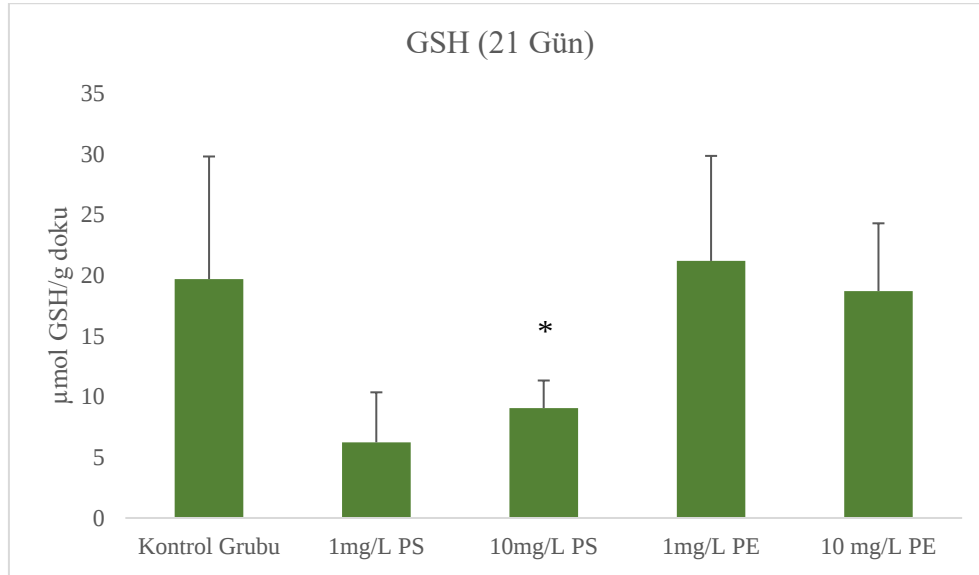
Çizelge 4.2. Maruziyet süresine göre GSH değerleri

n=7/grup	Süre
Deney Grubu	96 Saat
Kontrol	21 Gün
1mg/L PS	4,63±2,63
10mg/L PS	10,91±5,59
1mg/L PE	6,24±4,12* (n=6)
10mg/L PE	7,25±1,97
1mg/L PE	9,06±2,27*
10 mg/L PE	13,13±3,86*
10 mg/L PE	15,51±4,78*
	18,70±5,59

Her bir gruba ait veriler ortalama ± standart sapma şeklinde verilmiştir.

* Kontrol grubuna kıyasla $p < 0,05$ düzeyinde anlamlı farklılaşmayı ifade etmektedir.

Zebra balıklarının 1 ve 10 mg/L PS ve PE ile 21 gün maruziyet sonrası GSH değerleri Şekil 4.4 ve Çizelge 4.2’de gösterilmiştir.

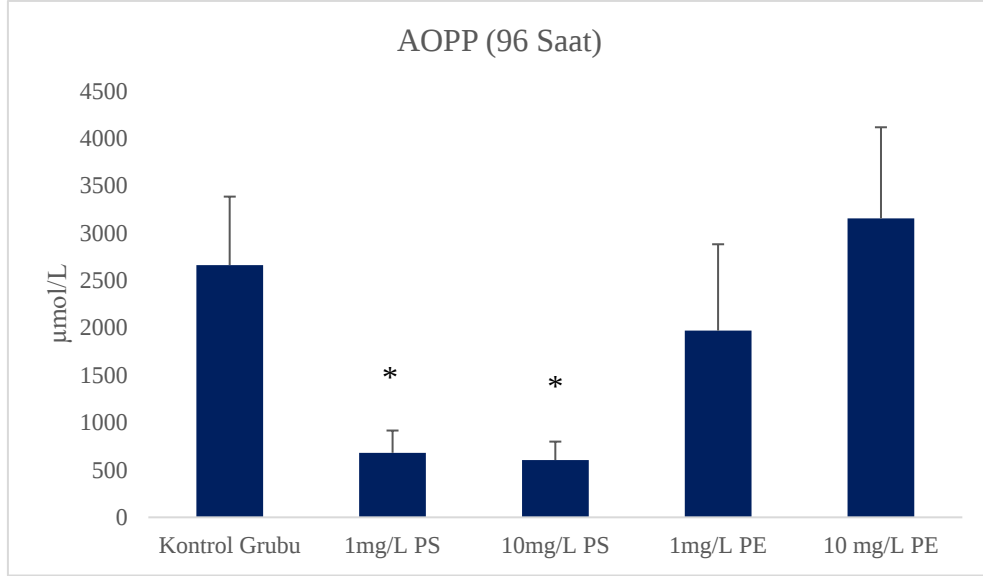


Şekil 4.2. Polistiren (PS) ve polietilenin (PE) 21 gün maruziyet GSH değerleri

- 1 mg/L PS grubundan elde edilen GSH değerleri ile kontrol grubundan elde edilen GSH değerleri arasında, 1 mg/L PS grubunda görülen azalma istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p=0,033$).
- 10 mg/L PS grubundan elde edilen GSH değerleri ile kontrol grubundan elde edilen GSH değerleri arasında, 10 mg/L PS grubunda görülen azalma istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p=0,045$).
- 1 ve 10 mg/L PE gruplarından elde edilen GSH değerleri ile kontrol grubundan elde edilen GSH değerleri karşılaştırıldığında bu gruplarda görülen artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p=0,919$, $p=0,852$).

4.3. Doku AOPP Düzeylerinin Ölçüm Değerleri

Zebra balıklarının 1 ve 10 mg/L PS ve PE ile 96 saat maruziyet sonrası AOPP değerleri Şekil 4.5 ve Çizelge 4.3’de gösterilmiştir.



Şekil 4.5. Polistiren (PS) ve polietilenin (PE) 96 saat maruziyet AOPP değerleri

- 1 mg/L PS grubundan elde edilen AOPP değerleri ile kontrol grubundan elde edilen AOPP değerleri arasında, 1 mg/L PS grubunda görülen azalma istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p=0,000$).
- 10 mg/L PS grubundan elde edilen AOPP değerleri ile kontrol grubundan elde edilen AOPP değerleri arasında, 10 mg/L PS grubunda görülen azalma istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p=0,000$).
- 1 ve 10 mg/L PE gruplarından elde edilen AOPP değerleri ile kontrol grubundan elde edilen AOPP değerleri karşılaştırıldığında bu gruplarda görülen sırasıyla azalma ve artma istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p=0,236$, $p=0,364$).

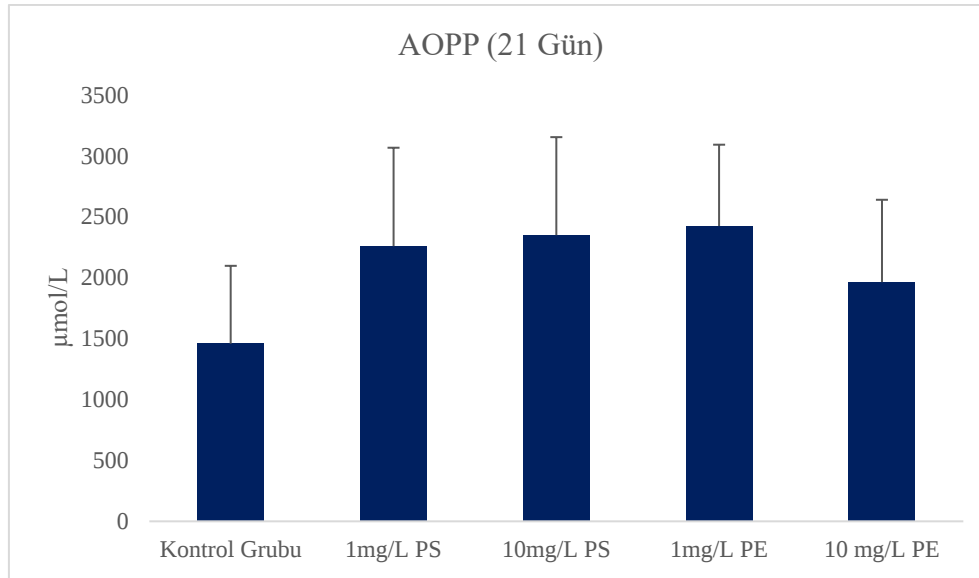
Çizelge 4.3. Maruziyet süresine göre AOPP değerleri

n=7/grup	Süre
Deney Grubu	96 Saat
Kontrol	21 Gün
1mg/L PS	2663,49±722,36
10mg/L PS	1459,18±638,86
1mg/L PE	681,26±235,23*
10mg/L PE	2259,52±808,25
1mg/L PE	605,32±194,27*
10 mg/L PE	2349,42±805,24
1mg/L PE	1971,00±911,92
10 mg/L PE	2424,82±667,92
10 mg/L PE	3155,81±962,34
10 mg/L PE	1964,33±676,02

Her bir gruba ait veriler ortalama ± standart sapma şeklinde verilmiştir.

*Kontrol grubuna kıyasla $p < 0,05$ düzeyinde anlamlı farklılaşmayı ifade etmektedir.

Zebra balıklarının 1 ve 10 mg/L PS ve PE ile 21 gün maruziyet sonrası AOPP değerleri Şekil 4.6 ve Çizelge 4.3’de gösterilmiştir.



Şekil 4.6. Polistiren (PS) ve polietilenin (PE) 21 gün maruziyet AOPP değerleri

- 1 ve 10 mg/L PS gruplarından elde edilen AOPP değerleri ile kontrol grubundan elde edilen AOPP değerleri karşılaştırıldığında bu gruplarda görülen artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p=0,124$, $p=0,090$).
- 1 ve 10 mg/L PE gruplarından elde edilen AOPP değerleri ile kontrol grubundan elde edilen AOPP değerleri karşılaştırıldığında bu gruplarda görülen artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p=0,055$, $p=0,282$).

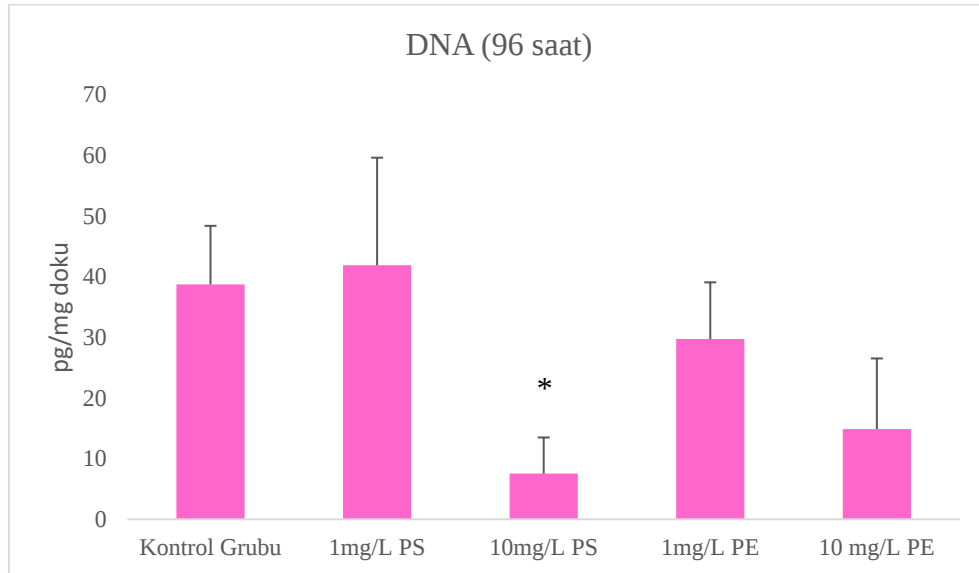
Ayrıca deney gruplarının farklı doz ve maruziyet süreleri de kendi içlerinde karşılaştırmalı olarak değerlendirilmesi aşağıda gösterilmiştir.

- 96 saat 1 ve 10 mg/L PS maruziyet gruplarından elde edilen GSH, AOPP ve MDA değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir değişim bulunmamıştır ($p=0,156$, $p=0,575$, $p=0,392$ sırasıyla).
- 96 saat 1 ve 10 mg/L PE maruziyet gruplarından elde edilen GSH, AOPP ve MDA değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir değişim bulunmamıştır ($p=0,431$, $p=0,078$, $p=0,112$, sırasıyla).
- 96 saat 1 mg/L PS ve PE maruziyet gruplarından elde edilen GSH ve MDA değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir değişim bulunmamıştır ($p=0,467$, $p=0,881$).
- 96 saat 1 mg/L PS ve PE deneyinde elde edilen AOPP değerleri arasında 1 mg/L PE grubunda görülen artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p=0,008$).
- 96 saat 10 mg/L PS ve PE maruziyet gruplarından elde edilen MDA değeri arasında, istatistiksel olarak anlamlı bir değişim bulunmamıştır ($p=0,389$).
- 21 gün 1 ve 10 mg/L PS maruziyet gruplarından elde edilen GSH, AOPP ve MDA değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir değişim bulunmamıştır ($p=0,227$, $p=0,850$, $p=0,673$, sırasıyla).
- 21 gün 1 ve 10 mg/L PE maruziyet gruplarından elde edilen GSH, AOPP ve MDA değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir değişim bulunmamıştır ($p=0,726$, $p=0,304$, $p=0,457$).
- 21 gün 1 mg/L PS ve PE maruziyet gruplarından AOPP ve MDA değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir değişim gözlenmemiştir ($p=0,721$, $p=0,190$), GSH değerinde 1 mg/L PE GSH değerindeki artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p=0,011$).
- 21 gün 10 mg/L PS ve PE maruziyet gruplarından elde edilen AOPP ve MDA değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir değişim bulunmamıştır ($p=0,413$, $p=0,304$). GSH değerinde 1 mg/L PE değerindeki artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p=0,005$).
- 1 mg/L PS (96 saat) ve 1 mg/L PS (21 gün) gruplarından elde edilen MDA değerleri arasında 1 mg/L PS (96 saat) değerindeki artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p=0,041$).
- 1 mg/L PS (96 saat) ve 1 mg/L PS (21 gün) gruplarından elde edilen GSH değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir değişim bulunmamıştır ($p=0,178$). AOPP değerleri arasında 1 mg/L PS (21 gün) değerindeki artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p=0,001$).

- 10 mg/L PS (96 saat) ve 10 mg/L PS (21 gün) gruplarından elde edilen GSH ve MDA değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir değişim bulunmamıştır ($p=0,185$, $p=0,425$). AOPP değerleri arasında 10 mg/L PS (21 gün) değerindeki artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p=0,001$).
- 1 mg/L PE (96 saat) ve 1 mg/L PE (21 gün) gruplarından elde edilen GSH, AOPP ve MDA değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir değişim bulunmamıştır ($p=0,106$, $p=0,412$, $p=0,953$, sırasıyla).
- 10 mg/L PE (96 saat) ve 1 mg/L PE (21 gün) gruplarından elde edilen GSH ve MDA değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir değişim bulunmamıştır ($p=0,386$, $p=0,291$), AOPP değeri arasında, 10 mg/L PE (96 saat) değerindeki artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p=0,386$).

4.4. DNA Hasar Tayini (8-OHdG) Ölçüm Değerleri

Zebra balıklarının 1 ve 10 mg/L PS ve PE ile 96 saat maruziyet sonrası 8-OHdG değerleri Şekil 4.7 ve Çizelge 4.4'de gösterilmiştir.



Şekil 4.3. Polistiren (PS) ve polietilenin (PE) 96 saat maruziyet 8-OHdG değerleri

- 96 saat 1 mg/L PS grubundan elde edilen 8-OHdG değerleri ile kontrol grubundan elde edilen 8-OHdG değerleri karşılaştırıldığında 1 mg/L PS grubundaki artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p=0,882$).

- 96 saat 10 mg/L PS deneyinde elde edilen 8-OHdG değerleri ile kontrol grubundan elde edilen 8-OHdG değerleri arasında, 10 mg/L PS grubunda görülen azalma istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p=0,030$).
- 96 saat 1 mg/L PE ve 10 mg/L PE gruplarından elde edilen 8-OHdG değerleri ile kontrol grubundan elde edilen 8-OHdG değerleri karşılaştırıldığında bu gruplarda görülen azalma istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p=0,608$, $p=0,263$).
- 96 saat 1 mg/L PE grubundan elde edilen 8-OHdG değerleri ile 10 mg/L PE grubundan elde edilen 8-OHdG değerleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir değişim bulunmamıştır ($p=0,390$).
- 96 saat 1 mg/L PS grubundan elde edilen 8-OHdG değerleri ile 10 mg/L PS grubundan elde edilen 8-OHdG değerleri arasında, 1 mg/L PS değerindeki artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p=0,010$).

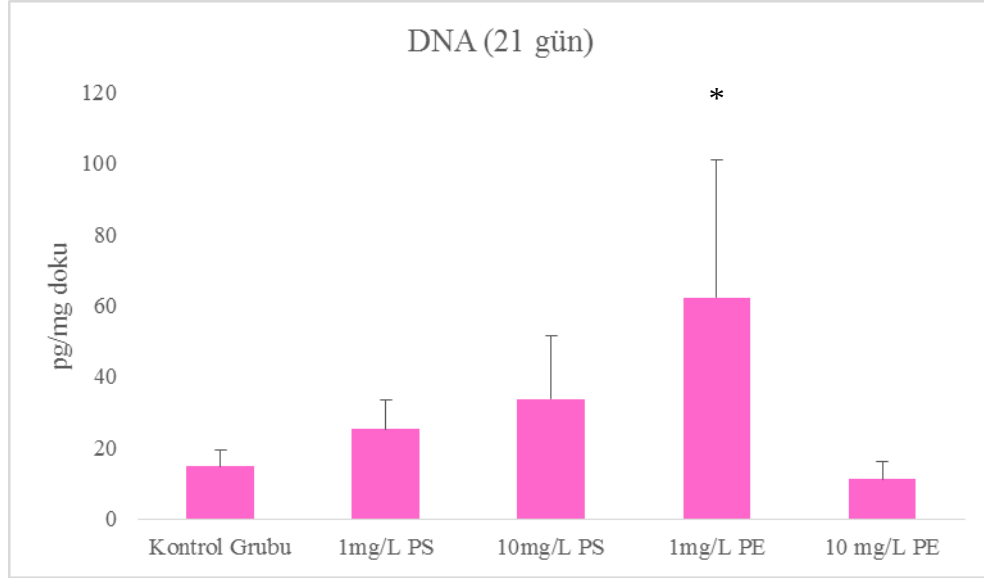
Çizelge 4.4. Maruziyet süresine göre 8-OHdG ölçüm değerleri

n=7/grup		Süre
Deney Grubu	96 saat	21 Gün
Kontrol	38,71±9,67	14,73±4,79
1mg/L PS	41,87±17,74	25,20±8,37
10mg/L PS	7,53±5,96*	33,64±17,86
1mg/L PE	29,71±9,36	62,24±38,46*
10 mg/L PE	14,86±11,66	11,19±4,83

Her bir gruba ait veriler ortalama ± standart sapma şeklinde verilmiştir.

* Kontrol grubuna kıyasla $p < 0,05$ düzeyinde anlamlı farklılaşmayı ifade etmektedir.

Zebra balıklarının 1 mg/L ve 10 mg/L PS ve PE ile 21 gün maruziyet sonrası 8-OHdG değerleri Şekil 4.8 ve Çizelge 4.4’de gösterilmiştir.



Şekil 4.4. Polistiren (PS) ve polietilenin (PE) 21 gün maruziyet 8-OHdG değerleri

- 21 gün 1 mg/L PS ve 10 mg/L PS gruplarından elde edilen 8-OHdG değerleri ile kontrol grubundan elde edilen 8-OHdG değerleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir değişim bulunmamıştır ($p=0,199$, $p=0,131$).
- 21 gün 1 mg/L PE grubundan elde edilen 8-OHdG değerleri ile kontrol grubundan elde edilen 8-OHdG değerleri arasında, 1 mg/L PE değerindeki artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p=0,028$).
- 21 gün 10 mg/L PE grubundan elde edilen 8-OHdG değerleri ile kontrol grubundan elde edilen 8-OHdG değerleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir değişim bulunmamıştır ($p=0,850$).
- 21 gün 1 mg/L PS grubundan elde edilen 8-OHdG değerleri ile 10 mg/L PS grubundan elde edilen 8-OHdG değerleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir değişim bulunmamıştır ($p=0,468$).
- 21 gün 1 mg/L PE grubundan elde edilen 8-OHdG değerleri ile 10 mg/L PE 8-OHdG değerleri arasında, 1 mg/L PE değerindeki artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p=0,026$).

Ayrıca deney gruplarının farklı doz ve maruziyet süreleri de kendi içlerinde karşılaştırmalı olarak değerlendirilmesi aşağıda gösterilmiştir.

- 96 saat 1 mg/L PS grubundan elde edilen 8-OHdG değerleri ile 1 mg/L PE 8-OHdG değerleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir değişim bulunmamıştır ($p=0,830$).
- 96 saat 10 mg/L PS grubundan elde edilen 8-OHdG değerleri ile 10 mg/L PE grubundan elde edilen 8-OHdG değerleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir değişim bulunmamıştır ($p=0,135$).
- 21 gün 10 mg/L PS grubundan elde edilen 8-OHdG değerleri ile 10 mg/L PE grubundan elde edilen 8-OHdG değerleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir değişim bulunmamıştır ($p=0,107$).
- 21 gün 1 mg/L PE grubundan elde edilen 8-OHdG değerleri ile 1 mg/L PS grubundan elde edilen 8-OHdG değerleri arasında, 1 mg/L PE değerindeki artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p=0,046$).
- 1 mg/L PS (96 saat) grubundan elde edilen 8-OHdG değerleri ile 1 mg/L PS (21 gün) 8-OHdG değerleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir değişim bulunmamıştır ($p=0,091$).
- 10 mg/L PS (96 saat) grubundan elde edilen 8-OHdG değerleri ile 10 mg/L PS (21 gün) grubundan elde edilen 8-OHdG değerleri arasında 10 mg/L PS (21 gün) değerindeki artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p=0,041$).
- 10 mg/L PS (96 saat) deneyinde elde edilen 8-OHdG değerleri ile 1 mg/L PE (21 gün) 8-OHdG değerleri arasında 1 mg/L PE (21 gün) değerindeki artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p=0,010$).
- 1 mg/L PE (96 saat) ve 1 mg/L PE (21 gün) gruplarından elde edilen 8-OHdG değerleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir değişim bulunmamıştır ($p=0,096$).
- 10 mg/L PE (96 saat) ve 10 mg/L PE (21 gün) gruplarından elde edilen 8-OHdG değerleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir değişim bulunmamıştır ($p=0,296$).

Zebra balıklarının 1 mg/L ve 10 mg/L PS ve PE 96 saat ve 21 gün maruziyet sonrası DNA miktarı ölçüm değerleri Çizelge 4.5'te, MDA, GSH, AOPP ve 8-OHdG değerleri Çizelge 4.6'da gösterilmiştir.

Çizelge 4.5. Nanodropta ölçülen DNA miktarları

Kontrol		1 mg/L PS		10 mg/L PS		1 mg/L PE		10 mg/L PE	
96 Saat (ng/μL)	21 Gün (ng/μL)	96 Saat (ng/μL)	21 Gün (ng/μL)	96 Saat (ng/μL)	21 Gün (ng/μL)	96 Saat (ng/μL)	21 Gün (ng/μL)	96 Saat (ng/μL)	21 Gün (ng/μL)
5,83	6,26	10,79	7,80	5,03	9,60	96,52	8,30	5,14	6,40
5,97	3,65	9,10	6,68	5,43	1,01	47,79	3,89	1,62	0,76
210,24	5,66	3,68	8,76	7,01	11,99	5,22	13,65	7,96	1,60
11,00	9,35	7,29	33,89	8,18	9,11	57,85	7,41	8,89	8,23
18,67	32,14	12,53	8,46	7,80	9,54	2,76	17,70	6,34	7,05
109,97	9,92	41,41	4,61	35,76	98,77	5,13	5,61	2,23	8,19
51,37	14,44	6,60	3,24	152,72	8,38	10,00	6,67	24,18	10,10

Çizelge 4.6. MDA, GSH, AOPP ve 8-OHdG değerleri

MDA		
n=7/grup	Süre	
Deney Grubu	96 Saat	21 Gün
Kontrol	0,26±0,12	0,40±0,30
1mg/L PS	0,95±0,43	0,38±0,18
10mg/L PS	0,66±0,54	0,44±0,22
1mg/L PE	1,01±0,71	0,99±0,84
10 mg/L PE	0,40±0,34	0,66±0,40
GSH		
n=7/grup	Süre	
Deney Grubu	96 Saat	21 Gün
Kontrol	4,63±2,63	19,69±10,10
1mg/L PS	10,91±5,59	6,24±4,12
10mg/L PS	7,25±1,97	9,06±2,27
1mg/L PE	13,13±3,86	21,19±8,65
10 mg/L PE	15,51±4,78	18,70±5,59
AOPP		
n=7/grup	Süre	
Deney Grubu	96 Saat	21 Gün
Kontrol	2663,49±722,36	1459,18±638,86
1mg/L PS	681,26±235,23	2259,52±808,25
10mg/L PS	605,32±194,27	2349,42±805,24
1mg/L PE	1971,00±911,92	2424,82±667,92
10 mg/L PE	3155,81±962,34	1964,33±676,02
DNA (8-OHdG)		
n=7/grup	Süre	
Deney Grubu	96 saat	21 Gün
Kontrol	38,71±9,67	14,73±4,79
1mg/L PS	41,87±17,74	25,20±8,37
10mg/L PS	7,53±5,96	33,64±17,86
1mg/L PE	29,71±9,36	62,24±38,46
10 mg/L PE	14,86±11,66	11,19±4,83

5. TARTIŞMA, SONUÇ VE ÖNERİLER

Son yıllarda mikroplastikler ve olası etkileri üzerinde yapılan araştırmaların sayısı giderek artmaktadır. Bu çalışma kapsamında literatür incelendiğinde yetişkin zebra balıklarında 96 saat ve 21 gün PS ve PE'ye 1 mg/L ve 10 mg/L olacak şekilde maruz kalan zebra balıklarının, tüm balık dokusu kullanılarak oksidan-antioksidan durumunun (MDA, GSH, AOPP biyokimyasal analizler) ve DNA hasar belirteci 8-OHdG miktar tayinin değerlendirildiği bir araştırmaya rastlanmamıştır.

Bu çalışmanın ana sonucunda, 1 ve 10 mg/L PS ve PE mikroplastiklerinin zebra balıklarında oksidan-antioksidan miktarlarında değişimlere (artma/azalma) neden olabildiği ve bunun sonucunda ise oksidatif hasar ve DNA hasarının oluşabildiği görülmüştür. Deney sonucunda MDA düzeylerinin (1mg/L PS ve PE'ye 96 saat) ve GSH düzeylerinin (1 ve 10 mg/L PE'ye 96 saat) kontrol grubuna göre arttığı bulunmuştur. GSH düzeylerinin (1 ve 10 mg/L PS'ye 21 gün) ve AOPP düzeylerinin (1 ve 10 mg/L PS 96 saat) kontrol grubuna göre azaldığı bulunmuştur. 8-OHdG düzeylerinin (10 mg/L PS grubunda 96 saat) kontrol grubuna göre azaldığı, 1 mg/L PE 21 gün grubunda ise kontrol grubuna göre arttığı bulunmuştur.

Yang ve diğerlerinin (2020) 7 gün boyunca 6:2 klorlu poliflorlu eter sülfonat (F-53B), PS mikroplastiklere (5 µm) ve bunların kombinasyonuna maruz kalan zebra balığı larvalarında (döllenmeden 6 gün sonra), MDA ve immünoglobulin M içeriğinin, F-53B veya PS-MP'lerden etkilenmediği, ancak bunların kombine maruziyetinde önemli ölçüde arttığı görülmüştür. Çalışmamızda 96 saat 1 mg/L PS ve 1 mg/L PE maruziyetinden sonra MDA değerinde istatistiksel olarak anlamlı bir artış bulunmuş ($p=0,008$, $p=0,041$) ve Yang ve diğerlerinin (2020) MDA sonuçları ile uyumlu olduğu görülmüştür.

Rangasamy, Malafaia ve Maheswaran (2022) çalışmasında farklı konsantrasyonlarda PE mikroplastiklere (5 ve 50 µg/L) farklı sürelerde (10 ve 20 gün) maruz kalan yetişkin zebra balığının (*Danio rerio*) karaciğerde katalaz (CAT) aktivitesi ve glutatyon S-transferaz (GST'ler) aktivitesinin (deneyin 10. gününde) önemli ölçüde azaldığını, 20 günlük maruziyetten sonra, PE-MP'lere maruz kalan hayvanların karaciğerinde GST aktivitesinin ve MDA miktarının konsantrasyona bağlı olarak arttığını da belirlemişlerdir. Çalışmamızda elde edilen 96 saat maruziyet 1 mg/L PE ve 10 mg/L PE GSH değerlerinde

ve 1 mg/L PS ve 1 mg/L PE MDA değerlerinde de anlamlı artış bulunmuş ve Rangasamy, Malafaia ve Maheswaran (2022) alışması ile uyumlu olduğu görülmüştür.

Çalışmamızda oksidatif hasarın belirlenmesinde yaygın olarak kullanılan bir belirteç olan lipit peroksidasyon son ürünü malondialdehit düzeyleri belirlenmiştir. Oksidatif streskoşullarında organizma savunma sistemi cevabı olarak malondialdehit düzeylerinde artış gözlenebilmektedir (Rangasamy, Malafaia ve Maheswaran 2022). MDA düzeylerindeki artış, antioksidan aktivitede azalmaya ve serbest radikal üretiminde ise artmaya neden olabilmekte, bunun sonucunda ise serbest radikaller ile antioksidanlar arasında bulunan denge bozulabilmektedir (Erçin, Bilgihan, Erkan ve Yücel 2019). Sonuç olarak, MDA biyobelirteç olarak değerlendirildiğinde, PS ve PE mikroplastiklerinin zebra balığı üzerinde oksidatif hasara neden olduğu düşünülmektedir.

Çalışmamızda 21 gün maruziyet 1 mg/L PS ve 10 mg/L PS GSH değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir azalma görülen ($p=0,033$, $p=0,045$) bulgularımıza benzer olarak Wan ve diğerleri (2019) tarafından larva zebra balığlarının 5 ve 50 μm çapında PS mikroplastiklere maruziyet sonrasında GSH değerinin önemli ölçüde azaldığı görülmüştür.

Guimaraes, Charlie-Silva, Malafaia (2021) alışmasında, zebra balığı yavruları 5 gün MP'lere maruziyetinde GSH düzeylerinde önemli artışlar gözlenmiş ve çalışmamızda elde edilen 96 saat maruziyet 1 mg/L PE ve 10 mg/L PE GSH değerlerindeki artış ($p=0,004$, $p=0,004$ ile uyumlu olduğu görülmüştür.

Xue ve diğerleri (2021) alışmasında zebra balığının 1, 5 ve 10 gün süre ile PE'ye (45-53 μm) maruziyeti sonucu GSH değerinde (5 gün) nemli ölçüde artış görülmüş ve çalışmamızda elde edilen 96 saat maruziyet 1 mg/L PE ve 10 mg/L PE GSH değerlerindeki artış ile uyumlu bulunmuştur.

Santos, Luzio, Felix, Bellas ve Monteiro (2022) alışmasında yetişkin zebra balığında MP'lerin ve bakırın (Cu) uzun süreli maruziyet sonrasında Cu25 grubunda önemli bir GSH artışı gözlemlenmiştir. Çalışmamızda 96 saat maruziyet 1 mg/L PE ve 10 mg/L PE GSH değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir artış bulunmuş ve Santos, Luzio, Felix, Bellas ve Monteiro (2022) alışması ile uyumlu olduğu görülmüştür.

Sonuç olarak GSH düzeyleri değerlendirildiğinde, 96 saat ve 21 günlük maruziyet sonucunda mikropplastiklerin zebra balıklarında akut ve kronik toksik etkisinin GSH seviyesinde artış/azalma olarak ortaya çıktığı, PS ve PE mikropplastiklerinin zebra balığı üzerinde oksidatif strese neden olduğu düşünülmüştür.

Arslan ve Günel (2023) çalışmasında fiproniline maruz kalan tatlı su midyeleri (*Unio delicatus*) 48 saat maruziyet grubunda GSH seviyelerinin kontrol grubuna göre azaldığı tespit edilmiş ve çalışmamızda elde edilen 21 gün maruziyet 1 mg/L PS ve 10 mg/L PS GSH değerlerindeki azalma ile uyumlu olduğu görülmüştür. AOPP değerlerinde ise artış olduğu, çalışmamızda 96 saat maruziyet 1 mg/L PS ve 10 mg/L PS AOPP değerlerinde azalma olduğu gözlenmiştir. AOPP sonuçlarının, çalışmalarda kullanılan model organizmaların farklı olması (çalışmamızda omurgalı bir model organizma kullanılmıştır), kullanılan kimyasal madde ve doza bağlı olarak değişebildiği, organizma üzerindeki etkilerinin farklı şekilde ortaya çıkabileceği düşünülmüştür.

İpiçürük (2018) çalışmasında çinko ve bakır piritiyonun (Zn/Cu pyrrhione) zebra balıklarında AOPP, DNA/RNA oksidatif hasar düzeyleri belirlenmiş AOPP değerlerinde artış, çalışmamızda ise 96 saat 1 mg/L PS ve 10 mg/L PS AOPP değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir azalma bulunmuştur ($p=0,000$). AOPP sonuçlarının, kullanılan kimyasal madde ve doza bağlı olarak değişebildiği düşünülmüştür. Çalışmamızda elde edilen 96 saat 10 mg/L PS maruziyetinde 8-OHdG değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir azalma bulunmuş ($p=0,030$) ve İpiçürük (2018) çalışmasında elde edilen 1 µg/L Zn 96 saat 8-OHdG değerlerindeki azalma ile uyumlu bulunmuştur. 8-OHdG'nin DNA yapısında GC'yi AT'ye dönüştürerek mutasyonu neden olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca oksidatif hasar, kanser oluşumu, yaşlanma, kardiyovasküler ve immün sistem hastalıkları, dejeneratif hastalıklara da neden olabilmektedir (Yokuş ve Çakır, 2002).

Çalışmamızda ileri oksidatif protein hasarın izlenmesi için AOPP biyobelirteçi kullanılmıştır. AOPP gelişmiş oksidasyon protein ürünleri seviyesinin belirlenmesi için kullanılmaktadır (Selmeçi ve diğerleri, 2005). Sucul organizmalarda AOPP biyobelirtecinin değerlendirildiği sınırlı sayıda çalışma gözlenmiştir. Çalışmada AOPP düzeyleri değerlendirildiğinde, 96 saat ve 21 günlük maruziyet sonucunda mikropplastiklerin zebra balıklarında akut ve kronik toksik etkisinin oksidatif strese neden olduğu düşünülmüştür.

Sökmen ve diğerleri (2020) çalışmalarından zebra balığı embriyosuna polistiren nanoplastiklerine (PNP) (20 nm) 120 saat maruziyet sonunda beyin bölgelerinde oksidatif DNA hasarına yol açtığı görülmüştür. Çalışmamızda 8-OHdG değerlerindeki artış Sökmen ve diğerlerinin (2020) çalışması ile uyumlu bulunmuştur. Sonuç olarak, 8-OHdG düzeyleri değerlendirildiğinde, 96 saat ve 21 günlük maruziyet sonucunda PS ve PE mikroplastiklerinin zebra balıklarında akut ve kronik toksik etkisinin 8-OHdG seviyesinde artış/azalma olarak ortaya çıktığı, doz ve süreye bağlı farklı şiddette DNA hasarı oluşturduğu düşünülmüştür.

Mikroplastiklerin organizmalar üzerindeki etkilerinin temel mekanizmalar henüz tam olarak aydınlatılamamıştır. Mikroplastiklerin toksikolojik etkileri ile ilgili etkenlerin fazlalığı (konsantrasyon, maruziyet süresi, maruziyet yolu, boyut, şekil, mikroplastiklerin vektör olarak rolü, doğadaki durumları vb.) nedeniyle çalışmalarda bazı zorluklarla karşılaşmaktadır. Bu zorluklarda mikroplastik çalışmalarında kısıtlılıklar ortaya çıkarmaktadır. Çalışmamız mikroplastiklerin hem suda yaşayan organizmalar hem de insanlar üzerindeki ekotoksikolojik etkilerini daha iyi anlayabilmek için yapılacak olan araştırmalara bir ön veri sağlamıştır. Doğal ortamda diğer kimyasal maddeler (PCB, KOK, ağır metaller vb) ile birlikte meydana gelen toksik etki mekanizmalarının anlaşılabilmesi için bu yönde çalışmaların artırılması gerektiği düşünülmektedir.

Mikroplastiklerin neden olduğu genotoksik (DNA hasarı) ve oksidatif hasar üzerine etkileri ile ilgili olarak antioksidan sistemlere yönelik diğer biyobelirteçlerin (SOD, CAT, GPx) de birlikte değerlendirilmesinin bu çalışmanın bulgularını destekleyeceği düşünülmektedir. Ayrıca LPO değerlerini destekleyecek farklı oksidatif hasar belirteçlerinin belirlenmesi ve kan parametrelerinin de yapılacak olan çalışmalara dahil edilmesi ile mikroplastiklerin ekotoksikolojik etkilerinin değerlendirilmesi çok yönlü olarak ele alınabilmektedir.

Mikroplastiklerle ilgili diğer önemli bir konuda oluşumlarının ve dağılımlarının azaltılmasıdır. Plastik kullanımının en aza indirilmesi ve insanların günlük yaşamlarında plastik ürünler yerine alternatif ürünler kullanmaları yönünde farkındalık yaratılması önerilmektedir. Çünkü mikroplastik kirliliğinde çevresel boyutun yanında sosyal boyutu da konunun önemli bir parçasıdır. Mikroplastik içermeyen kozmetik ürünlerin

yaygınlaştırılması ve ürünlerin üzerindeki “mikroplastik içermez” uyarısı da farkındalık yaratmak için etkili bir yöntem olabilmektedir.

Plastik üretimi ile ilgili sınırlamalar getirilmesi, tek kullanımlık plastikler yerine alternatiflerin kullanılmaya teşvik edilmesi, evsel atık su kaynaklı kirliliği önlemek için gerekli tedbirlerin alınması, geri kazanımın yaygınlaştırılarak plastik ayak izinin azaltılması, kozmetik sektöründen kaynaklanan kirliliğin azaltılması için alınması gereken önlemlerin değerlendirilmesi ve bununla ilgili politikaların geliştirilmesi gerektiği düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

- Aktan, A. K. (2018). *Yaşlanma Sürecinde Hücre Ölüm Mekanizmalarının Araştırılması*, Doktora Tezi, Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 12-13.
- Andican, Z. G. (2000). *Oksidatif DNA Hasarının Göstergesi Olan 8-Hidroksi Deoksiguanozin'in Analiz Yöntemi ve STZ Diabetik Sıçanlara Uygulanması*, Doktora Tezi, İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, 7-15.
- Andrady, A. L. (2011). Microplastics in the marine environment. *Marine Pollution Bulletin*, 62, 1596-1605.
- Andrady, A. L. and Neal, M. A. (2009). Applications and societal benefits of plastics. *Philosophical Transactions of The Royal Society*, 364, 1977-1984.
- Arslan, P. and Günel, A.Ç. (2023). Does fipronil affect on aquatic organisms? physiological, biochemical, and histopathological alterations of non-target freshwater mussel species. *Water*, 15, 334.
- Atmaca, E. ve Aksoy, A. (2009). Oksidatif DNA hasarı ve kromatografik yöntemlerle tespit edilmesi. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 20 (2), 79 – 83.
- Barboza, L.G.A., Lopes, C., Oliveira, P., Bessa, F., Otero, V., Henriques, B., Raimundo, J., Caetano, M., Vale, C. and Guilhermino, L. (2020). Microplastics in wild fish from North East Atlantic Ocean and its potential for causing neurotoxic effects, lipid oxidative damage, and human health risks associated with ingestion exposure. *Science Total Environmental*, 717, 134625.
- Barboza, L.G.A., Vieira, L.R., Branco, V., Figueiredo, N., Carvalho, F., Carvalho, C. and Guilhermino, L. (2018). Microplastics cause neurotoxicity, oxidative damage and energy-related changes and interact with the bioaccumulation of mercury in the European seabass, *Dicentrarchus labrax* (Linnaeus, 1758). *Aquatic Toxicology*, 195, 49–57.
- Bhagat J. and Zang L., Nishimura N., Shimada Y. (2020). Zebrafish: An emerging model to study microplastic and nanoplastic toxicity. *Science Total Environmental*, 728(3), 122-145.
- Blokhina O., Virolainen E. and Fagerstedt K.V. (2003). *Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: A Review. Annals of Botany*, 9, 179-94.
- Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72, 248-254.
- Brandts, I. and Balasch, J., Tvariionaviciute, A., Barreto, A., Martins, M., Tort, L., Oliveira, M., Teles, M. (2019). *The role of humic acids on the effects of nanoplastics in fish*. Proceedings of the 2nd International Conference on Microplastic Pollution in the Mediterranean Sea, Capri, Italy, 164–169.

- Büyükuslu, N. ve Yiğitbaşı, T., (2015). Reaktif oksijen türleri ve obezitede oksidatif stres, *Marmara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 5(3), 197-203.
- Campanale, C., Massarelli, C., Savino, I., Locaputo, V. and Uricchio, V.F., (2020). A detailed review study on potential effects of microplastics and additives of concern on human health. *International Journal Environmental Research Public Health*, 17, 1212.
- Carpio, Y. and Estrada, M.P. (2006). Zebrafish as a genetic model organism *Biotechnologia Aplicada*, 23, 265-270.
- Chen, L., Huang, C., Hu, C., Yu, K., Yang, L. and Zhou, B. (2012). Acute exposure to DE-71: Effects on locomotor behavior and developmental neurotoxicity in zebrafish larvae. *Environmental Toxicology Chemistry*, 31, 2338–2344.
- Chen, Q., Gundlach, M., Yang, S., Jiang, J., Velki, M., Yin, D. and Hollert, H. (2017a) Quantitative investigation of the mechanisms of microplastics and nanoplastics toward zebrafish larvae locomotor activity. *Science Total Environmental*, 3(2), 584–585
- Chen, Q., Yin, D., Jia, Y., Schiwy, S., Legradi, J., Yang, S. and Hollert, H. (2017b), Enhanced uptake of BPA in the presence of nanoplastics can lead to neurotoxic effects in adult zebrafish. *Science Total Environmental*, 609, 1312–1321.
- Ding, J., Huang, Y., Liu, S., Zhang, S., Zou, H., Wang, Z., Zhu, W. and Geng, J. (2020). Toxicological effects of nano- and micro-polystyrene plastics on red tilapia: Are larger plastic particles more harmless? *Journal of Hazardous Materials*, 396, 122693.
- Ding, J., Zhang, S., Razanajatovo, R.M., Zou, H. and Zhu, W. (2018). Accumulation, tissue distribution, and biochemical effects of polystyrene microplastics in the freshwater fish red tilapia (*Oreochromis niloticus*), *Environmental Pollution*, 238, 1–9.
- Ellman, G. L. (1959). Tissue sulfhydryl groups. *Archives Biochemistry and Biophysics*, 82, 70–77.
- Engeszer, R. E., Patterson, L. B., Rao, A. A. and Parichy, D. M. (2007). Zebrafish in the wild: a review of natural history and new notes from the field. *Zebrafish*, 4(1) 21-37.
- Erçin, U., Bilgihan, A., Erkan, A. F. ve Yücel, H. (2019). Koroner arter hastalığında yeni parametreler: oksidatif stres belirteçleri. *Türk Klinik Biyokimya Dergisi*, 17(1), 48-55.
- Espinosa, C., Cuesta, A. and Esteban, M.Á. (2017). Effects of dietary polyvinylchloride microparticles on general health, immune status and expression of several genes related to stress in gilthead seabream (*Sparus aurata* L.). *Fish & Shellfish Immunology*, 68, 251–259.
- Fan, C.Y., Cowden, J. Simmons, S.O., Padilla, S. and Ramabhadran, R. (2010). Gene expression changes in developing zebrafish as potential markers for rapid developmental neurotoxicity screening. *Neurotoxicology and Teratology*, 32, 91–98

- Frias J. P. G. L. and Nash R. (2019). Microplastics: Finding a consensus on the definition. *Marine Pollution Bulletin*, 138, 145-147.
- Gaylarde, C. C., Neto J. A. B. and Fonseca, E. M. (2021). Nanoplastics in aquatic systems-are they more hazardous than microplastics? *Environmental Pollution*. 272, 115950.
- Geiser, M, Rothen-Rutishauser, B., Kapp, N., Schürch, S., Kreyling, W., Schulz, H., Semmler, M., Hof, V.I., Heyder, J. and Gehr, P. (2015). Ultrafine particles cross cellular membranes by nonphagocytic mechanisms in lungs and in cultured cells. *Environmental Health Perspectif*, 113, 1555–1560.
- Guerrera, M.C., Aragona M., Porcino C., Fazio F., Laurà R., Levanti M., Montalbano G., Germanà G., Abbate F. and Germanà A. (2021). Micro and nano plastics distribution in fish as model organisms: histopathology, blood response and bioaccumulation in different organs. *Applied Sciences*, 11, 5768.
- Guimaraes, A.T.B., Charlie-Silva, I. and Malafaia, G. (2021). Toxic effects of naturally-aged microplastics on zebrafish juveniles: A more realistic approach to plastic pollution in freshwater ecosystems. *Journal of Hazardous Materials*, 407,124833.
- Güler, Ç. ve Çobanoğlu, Z. (1997). *Plastikler* (Birinci Baskı). Ankara: Sağlık Bakanlığı, 9.
- Gündoğdu S., Çevik, C., Ayat, B., Aydoğan, B. and Karaca, S. (2018). How microplastics quantities increase with flood events? An example from Mersin Bay NE Levantine coast of Turkey. *Environmental Pollution*. 239,342-350.
- Gündoğdu, S. ve Çevik, C. (2019a). Türkiye’deki deniz canlılarında mikroplastik kirliliği, *Greenpeace*, İstanbul, 4-32.
- Gündoğdu, S. ve Çevik, C. (2019b). Mediterranean dirty edge: High level of meso and macroplastics pollution on the Turkish coast. *Environmental Pollution*, 255, 11335.
- Gündoğdu, S. and Walker, T.R. (2021). Why Turkey should not import plastic waste pollution from developed countries? *Marine Pollution Bulletin*, 171, 122-145.
- Haghi, B. N. and Banaee, M. (2017). Effects of micro-plastic particles on paraquat toxicity to common carp (*Cyprinus carpio*): Biochemical changes. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 14, 521–530.
- Halliwell, B. and Gutteridge, J. M. C. (2007). *Free radicals in biyology and medicine* (Fourth edition). New York: Oxford University Press, 100-120.
- Hamed, M., Soliman, H. A. M., Osman, A. G. M. and Sayed, A. E. (2019). Assessment the effect of exposure to microplastics in Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) early juvenile: I. blood biomarkers. *Chemosphere*, 228(21), 345–350.
- Hu, M. and Pali’c, D. (2020). Micro and nano plastics activation of oxidative and inflammatory adverse outcome pathways. *Redox Biology*, 37(3), 101620.
- Huang, D., Tao, J., Cheng, M., Deng, R., Chen., Yin, L. and Li, R. (2021). Microplastics and nanoplastics in the environment: Macroscopic transport and effects on creatures, *Journal of Hazardous Materials*, 407,1-18.

İnternet: Büyük Pasifik Çöp Alanı (2022). Web: theoceancleanup.com/great-pacific-garbage-patch/. Son Erişim Tarihi: 20.12.2022.

İnternet: Plastik. (2018). National Geographic. Web: https://www.nationalgeographic.com.tr/makale/haziran_2018/plastik/3951. Son Erişim Tarihi: 29.04.2019.

İnternet: Yenigün, O. (2018). Mikroplastik Kirliliği Nedir? Web: <https://sarkac.org/2018/12/mikroplastik-kirliligi-nedir/> Son Erişim Tarihi: 14.04.2019

İnternet: Zebrafish (2022). Web: en.wikipedia.org/wiki/Zebrafish. Son Erişim Tarihi: 30.12.2022.

İnternet: Britannica, Microplastics (2022). Web: <https://www.britannica.com/technology/microplastic>. Son Erişim Tarihi: 20.09.2022.

İpiçürük, N. (2018). *Çevresel Kirleticiler Çinko ve Bakır Piritinin (Zn/Cu pyrrhotite) zebra balıklarında (Danio rerio) Genotoksik ve Oksidatif Hasar Üzerine Etkilerinin Belirlenmesi*, Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 58-59.

Jabeen, K., Li, B., Chen, Q., Su, L., Wu, C., Hollert, H. and Shi, H. (2018). Effects of virgin microplastics on goldfish (*Carassius auratus*). *Chemosphere*, 213, 323–332.

Jeyasanta, K.I., Sathish, N., Patterson, J. and Edward J. K. P. (2020). Macro-, meso- and microplastic debris in the beaches of Tuticorin district, Southeast coast of India, *Marine Pollution Bulletin*, 154, 26-45.

Kanlı, İ. B. and Kurt, Y. (2019). *An Evaluation of microplastic pollution within the scope of environmental policies of Turkey*. 2nd International Congress On New Horizons In Education and Social Sciences (ICES-2019), Istanbul, 495-514.

Karami, A., Romano, N., Galloway, T. and Hamzah, H. (2016). Virgin microplastics cause toxicity and modulate the impacts of phenanthrene on biomarker responses in African catfish (*Clarias gariepinus*). *Environmental Research*, 151, 58–70.

Karuppasamy, P.K., Ravi, A., Vasudevan, L., Elangovan, M.P., Dyana Mary, P., Vincent, S.G.T. and Palanisami, T. (2020). Baseline survey of micro and mesoplastics in the gastro-intestinal tract of commercial fish from Southeast coast of the Bay of Bengal. *Marine Pollution Bulletin*, 153, 110974.

Kashiwada, S. (2006). Distribution of nanoparticles in the see-through medaka (*Oryzias latipes*). *Environmental Health Perspectives*, 114, 1697–1702.

Kayhan, E. F. (2019). Mikroplastiklerin (MP) sucul organizmalar üzerindeki risk profillerinin değerlendirilmesi. *S.Ü. Fen Fakültesi Fen Dergisi*, 126-135.

Kayhan, E. F., Kaymak G., Esmerduruel H. E. ve Tartarkizilkaya, Ş. (2018). Biyolojik araştırmalarda zebra balığının (*Danio rerio* Hamilton, 1822) kullanılması ve önemi. *Gaziosmanpaşa Bilimsel Araştırma Dergisi*, 2, 38-45.

- Kayhan, EF., Kaymak, G., Akbulut, C. ve Ertuğ, NDY. (2017). 2,4-D'nin (diklof-rofenoksiasetikası) zebra balığı (*Danio rerio* Hamilton,1882) solungaçlarında antioksidan enzimler ve lipid peroksidasyon seviyesi üzerine akut etkilerinin belirlenmesi. *Trakya Üniversitesi Doğa Bilimleri Dergisi*, 18(2), 143-148.
- Kim, S. W. and An, Y. J. (2019). Soil microplastics inhibit the movement of springtail species. *Environment International*, 126, 699–706
- Lee, W.S., Cho, H.J., Kim, E., Huh, Y.H., Kim, H.J., Kim, B., Kang, T., Lee, J.S. and Jeong, J. (2019). Bioaccumulation of polystyrene nanoplastics and their effect on the toxicity of Au ions in zebrafish embryos. *Nanoscale*, 11, 3173–3185.
- Lehner, R., Weder, C., Petri-Fink, A. and Rothen-Rutishauser, B. (2019). Emergence of nanoplastic in the environment and possible impact on human health. *Environmental Science & Technology*. 53 (4), 1748–1765.
- Leslie, H.A., Velzen, M. J. M., Brandsma, S. H., Vethaak, A. D., Garcia-Vallejo, J. J. and Lamoree, M. H. (2022). Discovery and quantification of plastic particle pollution in human blood. *Environment International*, 163, 107199.
- Limonta, G., Mancina, A., Benkhalqui, A., Bertolucci, C., Abelli, L., Fossi, M. C. and Panti, C. (2019). Microplastics induce transcriptional changes, immune response and behavioral alterations in adult zebrafish. *Scientific Reports*, 9, 15775.
- Lu, C., Kania, P. W. and Buchmann, K. (2018). Particle effects on fish gills: An immunogenetic approach for rainbow trout and zebrafish. *Aquaculture*, 484, 98–104.
- Mihara M. and Uchiyama M. (1978). Determination of malonaldehyde precursor in tissues by thiobarbituric acid test. *Analytical Biochemistry*, 86(1), 271-8.
- Oliveira, B.F., Nogueira-Machado, J.A. and Chaves, M.M. (2010). The role of oxidative stress in the aging process. *The Scientific World Journal*, 10, 1121–1128.
- Oliveira, M. Ribeiro, A., Hylland, K. and Guilhermino, L. (2013). Single and combined effects of microplastics and pyrene on juveniles (0+group) of the common goby *Pomatoschistus microps* (Teleostei, Gobiidae). *Ecological Indicators*, 34, 641–647.
- Piccardoa, M., Renzia, M. and Terlizzia, A. (2020). Nanoplastics in the oceans: Theory, experimental evidence and real world. *Marine Pollution Bulletin*, 157,111317.
- Polat, M. (2011). *Toxoplasma gondii* pozitif hastalarda oksidatif stres ve protein oksidasyon ürünlerinin değerlendirilmesi. Yayımlanmamış Doktora Tezi, Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Kayseri.
- Prata, J.C. (2018). Airborne microplastics: consequences to human health? *Environmental Pollution*, 234, 115-126.
- Rangasamy, B. and Malafaia, G., Maheswaran, R. (2022). Evaluation of antioxidant response and Na⁺-K⁺-ATPase activity in zebrafish exposed to polyethylene microplastics: Shedding light on a physiological adaptation. *Journal of Hazardous Materials*, 426, 127789.

- Saili, K.S., Corvi, M.M., Weber, D.N., Patel, A.U., Das, S.R., Przybyla, J., Anderson, K.A. and Tanguay, R.L. (2012). Neurodevelopmental low-dose bisphenol A exposure leads to early life-stage hyperactivity and learning deficits in adult zebrafish. *Toxicology*, 291, 83–92.
- Sancar, A., Boltz L. A., Kaçmaz, Ü. K. and Linn, S. (2004). Molecular mechanisms of mammalian DNA repair and the damage checkpoints. *Annual Review of Biochemistry*, 73, 39-85.
- Santos, D., Luzio, A., F'elix, L., Bellas, J. and Monteiro, S.M. (2022). Oxidative stress, apoptosis and serotonergic system changes in zebrafish (*Danio rerio*) gills after long-term exposure to microplastics and copper. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part C*, 258, 109363.
- Sarıkaya, E. (2020). *Abortus Imminens Hastalarında Lipit Peroksidasyonu (MDA) ve Bazı Antioxidant (SOD, GSH, GPx ve CAT) Aktivitelerinin Araştırılması*, Doktora Tezi, Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 16-35.
- Schmidley, J. W. (1990). Free radicals in central nervous system ischemia. *Stroke*, 21, 1086-90.
- Selmeci, L., Seres, L. İ., Antal, M. and Lukacs, J. (2005). Advanced oxidation protein products (AOPP) for monitoring oxidative stress in critically ill patients: a simple, fast and inexpensive automated technique, *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*, 43(3), 294-7.
- Sökmen, T. Ö., Sulukan, E., Türkoğlu M., Barane, A., Özkaraca, M. and Ceyhun, S. B. (2020), Polystyrene nanoplastics (20 nm) are able to bioaccumulate and cause oxidative DNA damages in the brain tissue of zebrafish embryo (*Danio rerio*). *Neurotoxicology*, 77, 51–59.
- Sreejai, R. and Jaya D. S. (2010). Studies on the changes in lipid peroxidation and antioxidants in fishes exposed to hydrogen sulfide. *Toxicology International*, 17, 71-77.
- Teles, M., Balasch, J. C., Oliveira, M., Sardans, J. and Peñuelas, J. (2020). Insights into nanoplastics effects on human health. *Science Bulletin*, 65, 1966–1969.
- Torres-Ruiza, M., De la Viejab, A., Gonzaleza, M.A., Lopeza, M.E. and Calvoa, A.C. (2021). Portillaa, A.I.C., Toxicity of nanoplastics for zebrafish embryos, what we know and where to go next, *Science of The Total Environment*, 797(3), 122-145.
- Wan, Z., Wang, C., Zhou, J., Shen, M., Wang, X., Fu, Z. and Jin, Y. (2019). Effects of polystyrene microplastics on the composition of the microbiome and metabolism in larval zebrafish. *Chemosphere*, 217, 646–658.
- Williams, G. M. and Jeffrey, A. M. (2000). Oxidative DNA damage: Endogenous and chemically induced. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 32 (3), 283-92.

- Witko-Sarsat V., Friedlander M., Capeillere-Blandin C., Nguyen-Khoa T., Nguyen A.T., Zingraff J., Jungers P. and Descamps-Latscha B. (1996). Advanced oxidation protein products as a novel marker of oxidative stress in uremia. *Kidney International*, 49, 1304-1313.
- Witko-Sarsat, V., Friedlander M., Khoa, T. N., Blandin, C., Nguyen, A. T., Canteloup, S., Dayer, J. M., Jungers, P., Tilman, D. and Beatrice, D. L. (1998). Advanced oxidation protein products as novel mediators of inflammation and monocyte activation in chronic renal failure. *The Journal of Immunology*, 161: 2524–2532.
- Xia, X., Sun, M., Zhou, M., Chang, Z. and Li, L. (2020). Polyvinyl chloride microplastics induce growth inhibition and oxidative stress in *Cyprinus carpio* var. larvae. *Science Of The Total Environmental*, 716, 136479
- Xue, B., Zhang, L., Li, R., Wang, Y., Guo, J., Yu, K. and Wang, S. (2020). Underestimated microplastic pollution derived from fishery activities and hidden in deep sediment. *Environmental Science & Technology*, 54(4), 2210-2217.
- Yang, H., Lai, H., Huang, J., Sun, L., Mennigen, J.A., Wang, Q., Yu Liu, Y., Jin, Y. and Tu, W. (2020). Polystyrene microplastics decrease F-53B bioaccumulation but induce inflammatory stress in larval zebrafish. *Chemosphere*, 255,127040.
- Yokuş, B. ve Çakır, D.Ü. (2002). İn vivo oksidatif DNA hasarı biyomarkeri; 8-hidroksi-2-deoksiguanozin. *Türkiye Klinikleri Tıp Bilimleri Dergisi*, 22(5):535-43
- Yurtsever, M. (2018a). Küresel plastik kirliliği, nano-mikroplastik tehlikesi ve sürdürülebilirlik. *Çevre Bilim ve Teknoloji*, 171-197
- Yurtsever, M. (2018b). Abiyotik bir su ürünü olan sofrta tuzunda mikroplastik kirliliği tehlikesi. *Su Ürünleri Dergisi*, 35(3), 243-249.
- Yurtsever, M. (2019). Nano- ve mikroplastik lerin insan sağlığı ve ekosistem üzerindeki olası etkileri. *MENBA Kastamonu Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Dergisi*, 5(2), 17-24).
- Zhang, J. F., Shen H., Wang X. R., Wu J. C. and Xue Y. Q. (2004). Effects of chronic exposure of 2,4-dichlorophenol on the Antioxidant system in liver of freshwater fish. *carassius auratus*. *Chemosphere*, 55, 167–174.
- Zhang, R., Silic, M.R., Schaber, A., Wasele, O., Freeman J.L. and Sepúlveda, M.S. (2020). Exposure route affects the distribution and toxicity of polystyrene nanoplastics in zebrafish. *Science of the Total Environment*, 724, 1-10
- Zhang, S., Wang, J., Liu, X., Qu, F., Wang, X., Wang, X., Li, Y. and Sun, Y. (2019). Microplastics in the environment: A review of analytical methods, distribution, and biological effects. *Trends in Analytical Chemistry*, 111, 62-72
- Zhang, S., Wang, J., Yan, P., Hao, X., Xu, B., Wang, W. and Aurangzeib, M. (2021). Non-biodegradable microplastics in soils: A brief review and challenge. *Journal of Hazardous Materials*, 409, 124525.

- Zhao, Y., Bao, Z., Wan, Z., Fu, Z. and Jin, Y. (2020). Polystyrene microplastic exposure disturbs hepatic glycolipid metabolism at the physiological, biochemical, and transcriptomic levels in adult zebrafish. *Science of the Total Environment*, 710, 136279.
- Zhou, Q., Zhang, H., Fu, C., Zhou, Y., Dai, Z., Li, Y., Tu, C. and Luoi, Y. (2018). The distribution and morphology of microplastics in coastal soils adjacent to the Bohai Sea and the Yellow Sea. *Geoderma*, 322, 201-208.
- Zitouni, N., Bousserhine, N., Missawi, O., Boughattas, I., Chèvre, N., Santos, R., Belbekhouche, S., Alphonse, V., Tisserand, F. and Balmassiere, L. (2021). Uptake, tissue distribution and toxicological effects of environmental microplastics in early juvenile fish *Dicentrarchus labrax*. *Journal of Hazardous Materials*, 403, 124055.
- .



Gazili olmak ayrıcalıktır...