



## Ağır Metal Kirliliği Olan Alanlarda Genotoksite Tayini ve Biyoizlem Çalışmalarında Bazı Kemirgenlerin Kullanılması

Fatma TURNA<sup>1\*</sup> Mustafa YAVUZ<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Akdeniz Üniversitesi, Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü, Kampüs, 07058, Antalya

\*Sorumlu Yazar:  
E-posta:ftmturna@gmail.com

Geliş Tarihi: 02 Şubat 2016  
Kabul Tarihi: 09 Mart 2016

### Özet

Çevredeki küçük memelilerin genotoksite için biyomonitör olarak kullanılması çevrenin farklı kirlenme faktörlerine karşı korunmasında 'erken uyarı sistemi' olarak kabul edilmektedir. Küçük memelilerden olan kemirgenler yaygın olarak kullanılan çeşitli çevresel kirliliğin ve genetik hasarın uygun belirteçleridir. Comet Yöntemi kullanılarak genotoksitenin izlenmesi, doğal yaşam alanlarında farklı kirlenmelere maruz kalmış küçük boyutlu memelilerden yabancı kemirgen türlerindeki DNA hasarının tespit edilmesi için kullanılan yaygın bir metottur. Dünyada yapılan bir çok çalışma ağır metaller ile kirlenmiş alanlardan yakalanan yabancı küçük memelilerde DNA hasarının ve biyobirikimin meydana gelebileceğini göstermiştir. Bu derlemenin amacı farklı faktörler (örneğin, maden arama çalışmaları, endüstriyel ve tarımsal faaliyetler) ile kirlenmiş alanlarda yaşayan yabancı küçük memelilerin kullanıldığı ve Comet Yöntemi ile yürütülen ekotoksikolojik biyoizlem çalışmalarına dikkat çekmektir.

**Anahtar Kelimeler:** Ekotoksikoloji, ağır metal kirliliği, biyobirikim, küçük kemirgenler, Comet yöntemi

## Use of Common Rodents to Determination of the Genotoxicity and Biomonitoring Studies in Heavy Metal Polluted Areas

### Abstract

The use of small mammals biomonitöring for genotoxicity in the environment is assume as an -early warning system- for protect the environment from different pollution factors. Small mammals as rodents are widely used as convenient indicators of various environmental pollution and genotoxic damage. Genotoxicity monitoring using the Comet assay is a common method for detect the DNA damage of small mammals as wild rodent species which exposed different pollution in natural habitats. A number of studies in the world demonstrate that DNA damage and bioaccumulation can be occurred in native small mammals which trapped the areas polluted by heavy metals. The aim of this review is to draw attention to the ecotoxicological biomonitöring studies conducted by Comet Assay that use living native small mammals in different areas polluted by various factors (such as, mining, industrial and agricultural activities).

**Keywords:** Ecotoxicology, heavy metal pollution, bioaccumulation, small rodents, Comet assay

## GİRİŞ

Dünya üzerinde canlıların yaşayabileceği yaşam alanları özel jeocoğrafik alanlarda bulunmaktadır. Bunlar arasında sahil ve geniş akarsu ekosistemleri başı çekmektedir. Ayrıca üç milyardan fazla insan bu ekosistemlere yakın alanlarda yaşayarak, yiyecek ihtiyaçlarını ve endüstriyel ham madde ihtiyaçlarını bu alanlardan elde etmek suretiyle yaşamlarını devam ettirmektedir. Bu nedenle, evsel ve endüstriyel atıklar çevreye salınmakta ve bu atıklar ekosistemde çeşitli değişikliklere sebep olmaktadır. Ayrıca insan etkisiyle ekosistemdeki pek çok canlının yaşam alanı geniş ölçüde değişmektedir. Çevreye salınan pek çok kirlenme faktörü ve insan etkisiyle meydana getirilen değişiklikler canlıların yaşam alanlarında büyük biyolojik ve ekonomik değişiklikler meydana getirmektedir. Bu bağlamda, günümüzde bu problemin yönetimi ve çözüm yollarının üretilebilmesi için çevresel ve ekolojik risk değerlendirme süreçlerinin gerekliliği tüm uluslarca kabul edilen bir ihtiyaç olarak karşımıza çıkan çok önemli bir olgudur. Doğal ve antropojenik (insan kaynaklı) etkilerle hem ekosistemin hem de insan sağlığının nasıl etkilendiği Dünya çapında araştırılan güncel bir konudur.

Toksik endüstriyel kimyasal madde kontaminasyonu, artan ultraviyole (UV) radyasyonu, beslenme değişimi ve eksikliği, hipoksi, habitat yok oluşu ve patojenlerin

oluşturduğu hastalıkların da içinde bulunduğu stres faktörleri biyolojik hiyerarşiyi takip ederek moleküler ve hücresele seviyeden başlayarak organizma, popülasyon, komünite ve ekosistem seviyesinde etkilere neden olur [1]. Geçmişte meydana gelen pek çok önemli ekolojik facia (örneğin; endüstriyel kazalar, petrol sızıntısı vb.) akut ve/veya kronik etkiler göstererek çevreye zarar vermiştir. Genelde, bu etkiler insan sağlığına olan etkiler ve belirgin popülasyonların ya da komünitelerin kaybolması ile saptanabilir. Bununla birlikte, insan kaynaklı faktörlerin ve kimyasal kirlenmelerin de içerisinde bulunduğu çevresel strese uzun vadede ve kronik maruziyet sonucu hızlı gelişen felaketler meydana gelebilir. Buna rağmen çevresel etki kademeli olan ve doğal süreçlerin etkisi nedeniyle zor fark edilebilen, doğal çevresel değişimi etkileyen bir halde ortaya çıkabilir. En önemlisi, zaman ölçeği bakımından yıllar boyunca devam eden etkilerin meydana getirdiği olguların değerlendirilebilme ihtimali azalmaktadır. Bu ikinci unsur çevresel etkilerin değerlendirilmesinde temel sorun olmuştur [2]. Çevresel etkilerin değerlendirilmesinde temel bazı konular bulunmaktadır, bunlar arasında; dünya çapındaki endüstrileşme, insan popülasyon yoğunluğunun artması, çarpık kentleşme gibi, kirliliğin temel kaynakları olarak sayılabilmektedir. Bu kirlilik sonucu yaşam alanları ile biyoçeşitlilik kaybolmaktadır ve insan sağlığı zarar görme-

ktedir. Bu etkilerin meydana getirdiği zararların ortadan kaldırılabilmesi için olası çözüm yollarından biri “çevresel tehlike sinyallerinin” moleküler, hücre ve organizma düzeyinde saptanarak daha ileri seviyedeki sonuç sinyalleri ile ilişkisinin değerlendirilmesidir [3, 4, 5, 6]. Bu tehlike sinyalleri ekoloji ile ilişkili olmalıdır ve sağlık durumunun belirlenmesinde yararlı olmalıdır. Bununla birlikte, mevcut bilgilerimizdeki eksiklikler nedeniyle, bu sinyaller, çevresel şartların değişiminin organizmaların mekanizmalarındaki değişiklikleri nasıl meydana getirdiğine ilişkin temellerin öngörülmesinde düşük bir seviyede etki etmektedir [2-6]. Moleküler, hücre ve organizasyon ve fonksiyon hakkında temel genellemeler yapabilmek bu araştırmaların bir parçasıdır. Prensipler olarak moleküler, hücre ve fizyolojik tehlike sinyalleri; organizmada sağlığı azaltan, patolojisyne sebep olan erken uyarı sistemleri olabilecek biyobelirteçleri içermelidir [7-9].

Ekotoksikoloji çalışmaları; çevresel kirlenmelerin ya da ağır metallerin neden olduğu kirliliğin belirteci (indikatör) hayvanlardaki etkilerin güvenilir testlerle (biyobelirteçlerle) değerlendirilmesi ile bu canlıların üzerinde yaşadığı çevrenin, çeşitli canlı türlerinin ve biyotanın nasıl etkileneceğine dair araştırmacılara bakış açısı kazandırmaktadır [4, 7, 10]. Bu nedenle çoğu zaman ekotoksikoloji alanında çeşitli nedenlerle ağır metaller ile kirlenen bölgelerde doğal yaşayan küçük memeli kemirgen türlerin dokularındaki ağır metal birikimi ve/veya genetik hasarın değerlendirildiği çalışmalar hakkında bilgi verilmiştir.

Geçtiğimiz yıllarda ekotoksikolojik araştırmalarda uygulanan bazı metotlarda omurgasız canlılar ve balıklarda metoda bağlı olarak genetik hasar meydana geldiği gözlenmiştir. Fakat memeli hayvanların insana benzerliğinin diğer canlılara göre fazla olması nedeniyle genotoksikolojik bakımdan değerlendirilmesinin çok sayıda avantajları olduğu gözlenmiştir [11]. Doğal yaşayan popülasyonlardaki genetik hasarın ve ekolojik değerlendirmelerin genellikle, yaşamın ve üremenin erken evrelerinde sıklıkla meydana geldiği düşünüldüğünde; bunun küçük bir sorun olduğu düşünülmektedir. Fakat ekotoksikoloji çalışmaları sonucunda kirlenmiş bölgelerde yaşayan canlılarda meydana gelen genetik hasar büyük bir sorun olarak değerlendirilmektedir [12]. Örneğin pek çok balık türü insan besin zincirine aktif olarak katıldığı için canlı vücuduna alınan bu genotoksiklerin kaderi açısından değerlendirilmesi şarttır. Şöyle ki; bu genotoksinler besin zinciri ile pek çok memeli canlının vücudunda birikebilmektedir ve/veya parçalanarak daha toksik metabolitlere dönüşebilmektedir [13]. Bu nedenle genetik toksikoloji testleri erken uyarı sistemleri olarak kullanılan bazı belirteçleri sağlayarak etkisi zor saptanabilen zararlı metabolitlerin etkilerinin gösterilmesi açısından büyük önem taşımaktadır. Genotoksisite çalışmalarında kullanılan bazı biyobelirteçler arasında DNA eklentilerinin (DNA adduct) oluşması, Mikronükleus (MN) oluşumu ya da Kromozom Aberasyonu (KA) sayılabilir ve bu biyobelirteçler çevredeki mutajen ve karsinojenlerin maruziyetini gösteren kullanışlı birer argüman olarak işlev görebilir [14-16]. Genomiks olarak ifade edilen genom düzeyindeki gelişmeler sayesinde yapılacak çalışmalar ekolojiden tıbbı yaşam bilimlerinin birçok alanında büyük oranda katkı sağlayacaktır. Çünkü ekotoksikolojik çalışmalar, genomik bilgi sağlayarak çeşitli kimyasalların ekolojik risklerinin değerlendirilmesine olanak sağlamaktadır. Aslında koruma konuları ile ilişkili olarak memeliler için başvurulan “toksikogenomiks”, “ekotoksikogenomiks” ile eş değer düzeyde tutulmaktadır [17-20]. Snape ve arkadaşlarına göre,

çevresel maruziyet ile popülasyon nüfusunu ölçebilen zaman aralıklarının (hayatta kalma, gelişme ve üreme) ölçülerek ilişkilendiren genomik, proteomik ve metabolomik konularını birleştiren iyi tasarlanmış *in vivo* araştırmalar büyük önem taşımaktadır [17].

Çeşitli nedenlerle çevreye salınan pek çok kirlenmenin çevrede doğal yayılım gösteren canlılar üzerindeki farklı etkileri ve besin zinciri ile dolaylı ya da direkt olarak insanlar üzerindeki zararlı etkilerinin başlangıç evrelerinde tespit edilebilmesi, tüm canlıları koruyabilmek için erken uyarı sistemleri olarak işlev görebilir. Bu derleme bu bakış açısıyla yapılmış ya da bu fikri destekleyecek nitelikte olan bazı çalışmalardan örnekler sunarak, özellikle küçük memelilerin bu tip çalışmalarda kullanılabilirliği ile ilgili bir bilinç oluşturmaya hedeflemektedir.

## Ağır Metal Kirliliği ve Küçük Kemirgen Memeliler

Genel olarak; herhangi bir toksik metal atomik kütle sine ve yoğunluğuna bağlı olmaksızın ağır metal olarak isimlendirilmektedir [21]. Ağır metaller, metalik özellik gösteren elementlerin alt grubu olarak kabul edilir. Bakır (Cu), Kurşun (Pb) ve Çinko (Zn) gibi bazı yaygın metaller geçiş metalleri olarak nitelendirilir. Ağır metaller doğal olarak dünyanın yer kabuğunda bulunmaktadır. Fakat çeşitli insan kaynaklı faaliyetler nedeniyle, bu ağır metallerin jeokimyasal döngüleri ve biyokimyasal dengeleri sürekli değişmektedir. Metal iyonları kurşunlu benzin, endüstriyel atıklar ve asit yağmurları ile topraktan göllere ve nehirlere karışarak çevre kirliliğine neden olmaktadır [22]. Çevreye salınan ağır metaller bitkiler ve hayvanlar dahil olmak üzere çeşitli canlı organizmalarda birikebilmektedir ve ikincil metabolitler üretmek farklı özelleşmiş bazı farmakolojik etkiler gösterebilmektedir. Örneğin bazı metallere uzun süre maruziyet nedeniyle [örneğin; Kadmiyum (Cd), Cu, Pb, Ni ve Zn] insanlarda çeşitli sağlık sorunları ortaya çıkabilmektedir [23]. Ayrıca bu ağır metaller düşük konsantrasyonlarda bile toksik etkiler gösterebilmekte, toprağa ve yer altı suyu kaynaklarına karışarak, besin zinciri yoluyla biyobirikim göstererek biyotayı zararlı olarak etkileyebilmektedir. Tüm bunların yanı sıra ağır metaller, kirlenme faktör ortadan kalksa dahi çok uzun yıllar çevrede varlığını sürdürebilmektedir. Toprakta bitkilere, bitkilerden omurgasız canlılara, omurgasız canlılardan küçük ve büyük memeli canlılara geçebilen ağır metaller, insanın da içinde bulunduğu tüm bu canlıları çeşitli seviyelerde etkileyebilmektedir. Davranış, fizyoloji ve diyetin de içerisinde bulunduğu pek çok farklı etmen hayvanlardaki ağır metal birikim seviyelerini etkilemektedir. Küçük memelilerin genellikle ağır metalleri bünyelerine almaları diyetle meydana gelirken, ayrıca cilt üzerinden emilim yoluyla, inhalasyon yolu ve hamilelik esnasında plasental yol ile de olabilmektedir [24]. Metallerin indüklediği toksisite ve karsinojenite ile ilgili yapılan çok sayıda çalışmada, biyolojik sistemlerde metallerin Reaktif Oksijen Türleri (ROS) ve Reaktif Nitrojen Türleri (RNS) üretmek etki gösterdiği ve yaşayan organizmalarda oksidatif stresi indükleyebildiği belirtilmiştir [25-33]. Metallerin yürüttüğü serbest radikal oluşumları DNA bazlarında değişikliklere, lipid peroksidasyonuna ve kalsiyum ve sülfidridil dengesinde değişikliklere neden olabilmektedir [34, 35]. Bu stres faktörleri ve bağlı değişiklikler organizmanın yaşamını olumsuz yönde etkilemektedir.

Kirlenen alanlarda doğal olarak yaşayan küçük memeliler özellikle tozlarda bulunan pek çok ağır metali, beslen-

dikleri organizmalar ya da bitkiler yoluyla bünyelerine almaları nedeniyle risk altındadır. Bu riskin büyüklüğünün, küçük vücut ağırlığına oranla günlük beslenme sıklığı ile birlikte beslenme yoluyla doğrudan maruz kalmaları ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir [36].

Tüm bu etkiler göz önünde bulundurulduğunda metallerin canlı bünyesindeki birikimlerinin tespit edilmesi önem arz etmektedir. Biyolojik birikim incelenirken; etkene maruz kalan organizma ve bu organizmanın besin zincirindeki yeri de dikkate alınmaktadır. Biyobelirteç olan pek çok organizma ekosistemdeki kirliliğin ve maruziyetin biyolojik etkilerini değerlendirmek amacıyla kullanılmaktadır. Biyobelirteçler arasında çevresel strese cevap olarak pek çok moleküler parametre, ekosistemde geri döndürülmesi mümkün olmayan hasarların meydana gelmesinden önce erken uyarı sistemleri olarak kullanılmaktadır [37].

Günümüzde tarla fareleri, köstebekler ve çeşitli küçük fare türleri gibi karasal küçük memeliler biyomonitör (biyozem yapmak için kullanılan) türler olarak ekotoksikolojik çalışmalarda kullanılmaktadır [38-46]. Bu hayvanlar yaygın yayılış alanı ve sınırlı kullanım aralığına sahip olmaları, genel yiyecek alışkanlıkları, kısa yaşam döngüleri, yüksek üreme potansiyelleri ve kolay yakalanmaları nedeniyle ekotoksikolojik etkileri çalışmak için uygun canlılardır. Ayrıca bu canlılar küçük vücut boyutları ve yüksek metabolik hızları nedeniyle büyük memelilere oranla çevresel kirleticilere daha yüksek oranda maruz kalmaktadırlar [40, 47]. Tüm bunların yanı sıra küçük memeli türleri insanların yerine kullanılabilme potansiyeline de sahiptir [48-50]. Metaller küçük memelilerin dokularında memeli türüne ve metal türüne bağlı olarak birikim göstermektedir. Bu bakımdan memelilerde karaciğer çok önemli bir organdır ve özellikle Pb (Kurşun), Cd (Kadmium) ve Zn (Çinko) gibi metallerin kullanıldığı ekotoksikolojik çalışmalarda bu metallerin biriktiği organ olarak karşımıza çıkmaktadır [41, 47, 51, 52]. Bununla birlikte küçük memelilerde metallerin vücuda alınması memeli türlerinin yeme alışkanlıkları ve yaşam biçimleri ile yakından ilişkilidir [53, 54]. En yüksek metal birikim seviyeleri genellikle insektivör (böcekler ile beslenen) olan küçük memelilerde gözlenmiştir. Bunun en önemli nedenlerinden biri de toksik metalleri bünyelerinde biriktiren toprak kurtçuklarıyla da beslenmeleridir [38, 55, 56]. Bazı çalışmalar ise biyobirikim açısından genel bir bakış açısı olarak (voles < mice < shrews) sivri burunlu farelerde daha sonra küçük farelerde ve sonrasında tarla farelerinde birikimin olabileceğini belirtmiştir fakat bazı çalışmalarda bundan farklı sonuçlar da gözlenmiştir. Örneğin İrlanda'da toprak kurdu ile beslenen farelerin Cd, Cu ve Pb birikimi bakımından en riskli grup olduğu belirlenmiştir [57]. Hayvanların yaşı ve cinsiyeti metal birikim seviyelerini etkileyebilir, fakat birikim hem canlı türüne hem de spesifik metal türüne bağlıdır. Örneğin insektivör memelilerden olan farelerin hem erkek hem de dişilerinde Pb ve Cd seviyeleri yaşa bağlı olarak artarken, Cr (Krom) seviyeleri düşmektedir [41]. Ayrıca besin zincirindeki yüksek değerler her zaman organizmanın metal yükü ile ilişkili değildir [53]. Örneğin küçük memeli türleri, daha büyük memeli türleri için ve kuşlar için av olmaktadır bu nedenle de bu besin zincirine metal geçişini arttıran önemli bir yol olarak kabul edilirler [38, 47, 58, 59].

Ekotoksikoloji alanında çeşitli alanlardan toplanan küçük memeli örneklerinin dokularındaki ağır metal birikim seviyeleri tespit edilmiştir. Literatür de döküm yapılan alanların [60, 61], metal işleme fabrikalarının [62], maden arama atıklarının [41, 42, 63, 64], taşıt yollarının [57, 65-

68], poligon alanlarının [38, 69-71] ve taşkın yatağı olan sulak alanların [47, 57, 59] olduğu bölgelerden toplanan küçük memelilerin dokularında yüksek metal konsantrasyonlarına rastlanmıştır. Bu çalışmalar için seçilen küçük memeli türleri ise (e.g. *Apodemus sylvaticus* (Linnaeus, 1758), *Crocidura russula* (Hermann, 1780), *Myodes glareolus* (Schreber, 1780), *Peromyscus leucopus* (Rafinesque, 1818), *Sorex araneus* (Linnaeus, 1758) olarak tercih edilmiş ve metal kirliliğinin biyobelirteci olarak kullanılmaya çok uygun canlılar olduğu belirtilmiştir.

Maden arama faaliyetleri sonucu çevreye pek çok metal ve/veya zararlı bileşik salınmaktadır. Kömür maden ocaklarının yakınlarında bulunan bölgelerde, kömür külü kalıntılarının yanı sıra maden arama çalışmaları sonucu bu bölgelerde yüksek oranlarda ağır metaller ortaya çıkar, bu metallerin arasında karsinojenik etkilere sahip olan nikel (Ni), krom (Cr), civa (Hg) ve kadmium (Cd) metalleri de bulunmaktadır [72]. Çeşitli maden arama çalışmaları nedeniyle çevreye yüksek oranda salınan metal ve metalloid bileşikler, ekosistemdeki pek çok canlıyı etkilemektedir. Son yıllarda yapılan çalışmalarda; çevreye salınan bu bileşiklerin zararlı etkilerinin değerlendirilmesinde, sonradan kirletilmiş doğal ortamlarda yaşayan kemirgenler biyobelirteç olarak kullanılmaktadır. Bu yabancı kemirgenler özellikle toprak, su ve hava ile yakın temasları nedeniyle metaller ile kirlenen alanlarda metal karışımlarına ve konsantrasyonlarına maruziyetin değerlendirilmesi açısından oldukça gerçekçi sonuçlar vermesi bakımından güçlü model organizmalar olarak kabul edilmektedir. [73]. Ayrıca küçük memelilerde (Örneğin; *Apodemus sylvaticus*) metal biyobirikimi çeşitli bölgelerde değerlendirilmektedir. Biyobirikimi değerlendirilen bu metaller arasında kurşun (Pb), civa (Hg), kadmium (Cd), demir (Fe), magnezyum (Mg), çinko (Zn), bakır (Cu), mangan (Mn), molibden (Mo), krom (Cr) bulunmaktadır [42].

Alaska'da 'Red Dog' Maden arama bölgesi Dünya'da en fazla Pb ve Zn üretimi gerçekleştiren maden arama bölgeleri arasında gösterilmektedir. Bu bölgede yaşayan küçük memelilerden olan *Clethrionomys rutilus* ve *Microtus oeconomus* türlerinin dokularındaki Pb, Zn ve Cd seviyeleri ve kan hücrelerinde genetik hasar araştırılmıştır. Çalışmada; Pb ve Cd konsantrasyonlarının kontrol alanından toplanan örnekler ile karşılaştırıldığında daha yüksek çıktığı, kan ve karaciğer dokusundaki Pb seviyesinin 20 kat, Cd seviyesinin ise 3 kat daha yüksek olduğu fakat Zn seviyesinde fark olmadığı belirlenmiştir [74].

Bir başka örnekte ise: Tarım, endüstri ve maden faaliyetleri nedeniyle ağır metaller ile kirlenen İspanya'da bulunan Doñana Ulusal Park'ında doğal olarak yayılış gösteren *Mus spretus* örneklerinin beyin, karaciğer, böbrek ve kan plazması gibi dokularında Fe, Cu, ve Zn seviyeleri yüksek çıkarken, Arsenik (As), Cd ve Ni seviyeleri düşük çıkmıştır. En düşük ağır metal seviyeleri ise beyin, akciğer ve kan plazması gibi dokularda saptanmıştır. Yapılan bu çalışmada birbirinden farklı özelliklere sahip 3 farklı çalışma alanı seçilmiş olup, plazma dokusunda Fe (Demir) oranı en yüksek çıkan örnekler Iberian Pirit Madeninin yakınlarında bulunan alandan alınan numuneler olmuştur. Bunun sebebinin maden asit direnaji sonucunda yüksek oranda bu bölgeye salınan Fe metaline maruziyetten kaynaklanabileceği belirtilmiştir. Seçilen diğer iki alan ise Guadamar Nehri'ne karışan herbisit ve pestisitler nedeniyle kirlenirken diğer taraftan, Aznalcollar madeninin 1998 yılında aynı nehre maden atık suyunun karışması ile taşıdığı ağır metaller ile kirlendiği ve bu bölgeden toplanan örneklerin karaciğer dokularında As (Arsenik) seviyelerinin bu nedenle çok yük-

sek çıktığı belirlenmiştir. Ayrıca bu iki bölgeden biri, bu kirlilik etmenlerinin yanı sıra aşırı endüstriyel faaliyetler nedeniyle de hava kirliliğine maruz kaldığı için bu alanda yaşayan örneklerin karaciğer dokularındaki As seviyelerinin çok daha yüksek olduğu saptanmıştır. Benzer şekilde bu iki alandaki örneklerin akciğer dokularında da As seviyeleri oldukça yüksek çıkmıştır [75].

Toksik ağır metaller sadece canlıların dokularında birikirmez, biyolojik birikimin yanı sıra pek çok seviyede canlı organizmayı etkileyebilir. Ağır metal toksisitesinin küçük memeli organizmaları hücresel ve genetik seviyede etkileyebildiği çeşitli çalışmalar ile gösterilmiştir. Örneğin Pb ve Cd içeren endüstriyel tozların klastojenik etki gösterdiği küçük bir kemirgen memeli tür olan *Microtus guentheri*'de gerçekleştirilen 60 günlük eko-toksikolojik bir deneyde gösterilmiştir. Polimetale tozları çok geniş alanlara yayılan endüstriyel kirlenmelerden biridir ve çeşitli metallerin birlikte bulunması nedeniyle oldukça toksik etkilere sahiptir. Bulgaristan'daki Pb/Zn endüstriyel ürünlerinin atık tozlarında bulunan ağır metallerin etkisi bir ekotoksikolojik çalışma ile kemirgenlerde (*Microtus guentheri* ve laboratuvar BALB/c farelerinde) değerlendirilmiştir ve yapılan bu çalışma boyunca farelerin vücut ağırlığında düşüş gözlenmiştir. Zamana bağlı olarak *Microtus guentheri*'nin karaciğer, böbrek ve vücudunda Zn, Cu, Pb ve Cd birikiminde artış gözlenirken, ayrıca kemik iliği hücrelerinde kromozom aberasyonu (KA) gözlenmiştir [76, 77] Yine bir başka çalışmada; Bulgaristan'daki dağ ekosistemlerinden endüstriyel olarak kirlenmiş iki alanda yaşayan küçük memeliler (*Microtus arvalis*, *Microtus rossiaemeridionalis*, *Clethrionomys glareolus*, *Pitymys subterraneus*, *Chionomys nivalis*, *Apodemus flavicollis*, *Apodemus sylvaticus* ve *Mus macedonicus*) biyomonitör olarak kullanılmıştır. Kromozom yapısındaki patolojik değişimler, KA (Kromozom Aberasyonu) ve zoo-monitörlerdeki ağır metal yükü arasında belirgin bir ilişki gözlenmiştir. Çalışmada kromozomal hasarın ve kan hücrelerindeki hasarın nedeninin Hg olabileceği belirtilmiştir [78]. Yine yakın tarihli bir başka çalışmada; Sırbistan'daki kirli bölgelerden alınan *Apodemus agrarius* örnekleri Fe, Mn, Co, Cd, Zn, Ni, Pb ve Cu ağır metallerinin birikimi açısından değerlendirilmiştir ve sonuç olarak kirlenmiş olan bölgede Mn, Cd, Fe ve Ni biyobirikim oranlarının kirlenmemiş bölgeye oranla önemli oranda yüksek olduğu saptanmıştır [79].

## Ekotoksikoloji ve Genotoksisite Tayinlerinde Comet Yöntemi ve Küçük Kemirgen Memelilerin Kullanımı

Comet Yöntemi hızlı, hassas ve kantitatif olarak tek bir ökaryotik hücredeki DNA hasarını değerlendirmeye olanak sağlayan güvenilir bir yöntemdir [80, 81]. Çevresel biyoizlem çalışmalarında çeşitli etkenlerle kirlenmiş bölgelerde yaşayan çeşitli biyobelirteçler olarak kullanılan küçük memeli hayvanlardaki genetik hasar Tek Hücre Alkali Jel Elektroforezi olarak da bilinen Comet yöntemi ile belirlenebilmektedir. Yapılan pek çok ekotoksikoloji çalışmasında kirliliği saptanan bölgelerde doğal olarak yaşayan küçük memeli türlerinde kan hücrelerinde DNA hasarı Comet yöntemi ile saptanmıştır [82].

Bugüne kadar küçük memeliler ile yapılan pek çok çalışma ekosistemde farklı nedenlerle meydana gelen kirliliğin bu canlılarda birikime neden olabileceğini gösterdiği gibi [83], ayrıca DNA hasarına da neden olabileceğini ortaya

koymuştur [84]. Doğal ortamlarda yaşayan kemirgenlerde tespit edilen genetik hasar bakımından belirgin korelasyonlar gösteren faktörler arasında pestisit [85], radyoaktivite [86] ve ağır metal kirliliği [66, 87] gösterilmektedir. Yapılan çalışmalarda da gözlemlendiği üzere literatürde küçük memelilerin çevresel kirlilik açısından biyobelirteç olarak kullanıldığı çeşitli çalışmalar mevcuttur [73, 88]. Örneğin İeradi ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada, *Mus spretus*, *Crucidura russula* ve *Apodemus sylvaticus* türleri biyoizlem için kullanılmıştır [88]. Bu canlılar arasında özellikle *Mus spretus*'un seçilme sebepleri olarak bu canlıların r-tipi üreme stratejisi göstermesi ve yüksek popülasyon yoğunluğuna sahip olmaları gösterilmektedir [89].

Örneğin, Bulgaristan'daki Strandzha Ulusal Park'ında 2010 ve 2011 yıllarında kirliliği belirlenen bir bölgede doğal olarak yaşayan *Apodemus flavicollis* bireylerinin kan lökositlerindeki genetik hasarın tespitine yönelik bir çalışma gerçekleştirilmiştir. Yapılan bu çalışmanın sonuçlarına göre, kronik maruz kalma yolu ile çeşitli kirlenmelere maruz kalan popülasyonların bireylerinde genetik hasar meydana geldiği saptanmıştır [90]. Portekiz'de terkedilmiş bir uranyum madeni alanından doğal olarak yaşayan ve toplanan *Apodemus sylvaticus* örneklerindeki genetik hasar Comet yöntemi ile değerlendirilmiştir [91].

Doğada maden ve mermer ocaklarının yanında insan tarafından çeşitli nedenlerle kullanılan çok sayıda zengin element kompozisyonuna sahip kaynaklar vardır. Bunlardan en önemlileri turbalar, petrol yatakları ve kömür ocaklarıdır. Kömür, 50'den fazla elementin heterojen karışımını içerir ve kömür çıkarılması esnasında oksitler, silika, Polisiklik Aromatik Hidrokarbonlar (PAH), ağır metaller gibi çok sayıda bileşik çok büyük miktarlarda atmosfere karışabilmekte ve bu maddeler karışım meydana getirebilmektedir. Bu karışımlar, her bir bileşimin birbirleriyle sinerjistik etki göstermesi nedeniyle sağlık açısından riskler taşımaktadır [92]. Kömür bileşiklerinin ve kompleks karışımlarının memeli canlılarda neden olduğu çevresel mutajenik zararlarının değerlendirilmesi ile ilgili çok az çalışma yapılmıştır [93-96]. Kolombiya'daki açık kömür madeni alanında yapılan bir çalışmada Comet yöntemi ile iki kemirgen türünde (*Rattus rattus* ve *Mus musculus*) genetik hasar değerlendirilmiştir [84]. Kömür madeni arama çalışmalarının yoğun olarak yapıldığı Kolombiya'daki bu bölgede doğal yaşayan *Mus musculus* ve *Rattus rattus* türleri kemirgenlerinin periferik kan hücreleri, kontrol bölgesinden toplanan kemirgenlerden alınanlar ile Comet Yöntemi kullanılarak genetik hasar bakımından karşılaştırılmıştır. Kömür madeni arama çalışmalarının yapıldığı bölgelerde yaşayan fare ve rat türlerinde DNA hasarının belirgin biçimde yüksek çıktığı saptanmıştır. DNA hasarı değerlendirilirken DNA uzunluğu (DNA kuyruk uzunluğu-lenght dna migration), hasar indeksi ve hasarlı hücre yüzdesi gibi parametreler kullanılmıştır. Bahsi geçen bu çalışmada DNA hasar indeksi bu parametreler arasında kontrol bölgesindeki örnekler ile kömür madeni arama bölgesinden toplanan örnekler arasındaki farkı en iyi gösteren parametre olmuştur. DNA hasar indeksi ortalamaları karşılaştırıldığında iki farklı bölgeden alınan farelerdeki örneklerin genetik hasar bakımından 8 kat farklı çıktığı gözlenirken, bu oran ratlar için 2.5 kat olarak saptanmıştır. Bu sonuçlar göz önünde bulundurulduğunda bunun sebeplerinden birinin tür farklılığı olabileceği gibi, bu çalışma için seçilen bölgedeki bazal örneklerdeki fare sayısının azlığından da kaynaklanabileceği belirtilmiştir. Özellikle yapılan bu çalışmanın kontrollü bir laboratuvar çalışması olmaması nedeniyle, türler arasındaki DNA

tamir hızı arasındaki farklardan kaynaklanabileceği de belirtilmiştir [84]. Comet Yöntemi ile yapılan bir diğer ekotoksikoloji çalışması örneği ise, Kolombiya'da kömür maden ocaklarına yakın bölgelerden toplanan ve küçük bir kemirgen memeli olan *Mus musculus* ile yapılan çalışmadır. Comet yöntemi ile bu canlılarda genetik hasarın olduğu tespit edilmiştir [97]. Da silva ve arkadaşları tarafından yapılan bir başka çalışmada ise; Brezilya'da bulunan kömür madenlerine yakın alanlarda doğal olarak yaşayan bir kemirgen olan *Ctenomys torquatus* türünü kullanarak Comet yöntemi ile genetik hasarı değerlendirmişlerdir [93]. Brezilya'nın Rio Grandedo Sul bölgesinde bulunan bu kömür madeni alanlarından toplanan *Ctenomys torquatus* örneklerinin hem kan hücrelerinde hem de karaciğer, böbrek ve akciğer dokularındaki hücrelerde DNA hasarı olduğu saptanmıştır [93, 98].

İspanya'da Doñana Ulusal Park'ında 1998 yılında meydana gelen ekolojik bir felaket olarak nitelendirilen Aznalcollar pirit madeni kazası sonrasında; çevreye salınan yüksek miktarda maden atığı, asidik su, çeşitli ağır metaller ve arsenik içeren atıklarla kirlenmiş olan bu bölgede yaşayan bir kemirgen türü olan *Mus spretus* örnekleri kazadan sonraki 6 ay ve 1 yıl sonrasında toplanmıştır ve elde edilen periferik kan hücrelerinde genetik hasar Comet yöntemi ile tespit edilmiştir. Sonuç olarak 1998 yılında toplanan örneklerde genetik hasar yüksek çıkarken 1999 yılındaki örneklerde düştüğü gözlenmiştir [99]. Aynı nedenlerle kirlenen İspanya'daki bir başka bölgeden elde edilen *Mus spretus* örneklerindeki genetik hasarın Comet yöntemiyle değerlendirilmesi sonucu oldukça yüksek genetik hasarın bulunduğu, bu nedenle yapılan pek çok çalışma göz önünde bulundurulduğunda küçük kemirgenlerin oldukça iyi biyobelirteçler olabilecekleri belirtilmiştir [100]. Comet yöntemi kullanarak yapılan bir diğer çalışmada ise; doğal ortamda yaşayan *Mus spretus* bireyleri araziden toplanarak laboratuvar koşullarında toprağa ham petrol sızıntı koşullarını yapay olarak oluşturulmuş ve 14 gün boyunca bireyleri bu koşullara maruz bıraktıktan sonra aynı bireylerin kan hücrelerinde genetik hasar olduğu Comet yöntemi ile saptanmıştır [101].

Ayrıca yoğun pestisit maruziyeti nedeniyle kirlenmiş Kanada'nın Ottawa/Gatineau bölgesinde bulunan bir golf sahası alanında yapılan bir biyoizlem çalışmasında *Microtus pennsylvanicus* türüne ait kan örnekleri Comet yöntemi ile genotoksitenin değerlendirilmesi için kullanılmıştır [102]. Yapılan bu çalışmada organoklorlü pestisit ve metal bazı pesititlere yüksek oranda ve sürekli maruz kalan doğal popülasyondaki canlılar uzun süreli sub-letal kronik maruziyet için uygun bir model olarak işlev görmüştür.

Çevre kirliliği ve bu kirliliğin olası etkilerinin saptanmasında kullanılan pek çok yöntem ve bazı biyobelirteç canlılar ekosistemin korunması açısından erken uyarı sistemi olarak kabul edilmektedir. Bu nedenle son yıllarda yapılan pek çok çalışma çevre kirliliği ve bazı biyobelirteç canlılardaki genetik hasarın Comet yöntemi ile ortaya çıkarılması [73, 84, 93, 97, 99, 100, 102] ve ayrıca farklı çalışmalar ile kirlilik kaynağına bağlı olarak bu canlılarda biyobirikim olup olmadığının [50, 75, 103] tespitine yöneliktir. Bu bağlamda ekotoksikoloji alanında Dünya üzerinde farklı kirlenici etmenler ile kirlenen alanlarda doğal olarak yaşayan küçük memeli türlerindeki genetik hasarın Comet yöntemi ile değerlendirildiği pek çok çalışma mevcuttur ve bu çalışmalara ve diğer gruplara ait canlılar ile yapılan çalışmalar De Lapuente ve arkadaşları tarafından derlenmiştir [82]. Comet yöntemi ile kirli alanlarda doğal

yaşayan küçük memeli türlerinde meydana gelen genetik hasarın araştırılmasına dayanan çalışmalara dair bazı örnekler Tablo 1 'de gösterilmiştir.

Literatür göz önünde bulundurulduğunda; çevre kirliliğinin olası zararlı etkilerinin ilk seviyelerde küçük memeli türler ile tespit edilmesi ekosistemin korunması için erken uyarı sistemi olarak kullanılabilir. Bu küçük memeli türlerinin pek çok açıdan insanlar ile ortak mekanizmaları kullanmaları nedeniyle insan popülasyonlarının korunması için de büyük önem taşıdığı düşünülmektedir. Bu nedenle, ağır metal kirliliğine çeşitli nedenlerle maruz kalmış pek çok alanda doğal olarak yaşayan memeli kemirgen türlerinin dokularındaki ağır metal birikim seviyelerinin tespit edilmesi ve çeşitli yöntemlerle hücresel seviyede genetik hasarın ortaya konulması ekotoksikolojik açıdan önemli birer biyobelirteç işlevi görmektedir. Böylece çevre kirliliğinin erkenden saptanması ile ilerleyen süreçlerde meydana gelebilecek olası zararlı etkilerin önüne geçilmesi, sonradan telafisi mümkün olmayan hasarların meydana gelmesinden önce gerekli tedbirler alınarak engellenmesine fırsat sunmaktadır. Dünyada son çeyrek yüzyılda bu konuda gelişen bilinç ve bu doğrultuda yapılan çalışmalar, ülkemizde yapılan ve yapılacak çalışmalara yön verebilecek durumdadır. Comet vb. güvenilirliği yüksek metodların kullanımı, verimli biyobelirteçler olan doğru küçük memeli türlerinin seçimi ekotoksikolojik çalışmalara yeni bir boyut kazandırabilecek niteliktedir. Ülkemizde çevresel etkilerin değerlendirilmesi, biyoizlem ve ekotoksikoloji alanında bu tip çalışmaların yapılmasına şiddetle ihtiyaç vardır.

## KAYNAKLAR

- [1] Rice J. 2003. Environmental health indicators. Ocean and Coastal Management. 46:23- 259.
- [2] Moore MN, Depledge MH, Readman JW, Leonard DRP. 2004. An integrated biomarker-based strategy for ecotoxicological evaluation of risk in environmental management. Mutation Research. 552:247-268.
- [3] Bayne BL, Brown DW, Burns K, Dixon DR, Ivanovici A, Livingstone DR, Lowe DM, Moore MN, Stebbing ARD, Widdows J. 1985. The Effects of Stress and Pollution on Marine Animals. Praeger, New York, 1985, 384 pp.
- [4] Moore MN, Simpson MG. 1992. Molecular and cellular pathology in environmental impact assessment. Aquatic Toxicology. 22:313-322.
- [5] Moore MN, Kohler A, Lowe DM, Simpson MG. 1994. An integrated approach to cellular biomarkers in fish. (Ed. Fossi MC, Leonzio C), Non-Destructive Biomarkers in Vertebrates, pp. 171-197. Lewis/CRC, Boca Raton.
- [6] Moore MN. 2002. Biocomplexity: the post-genome challenge in ecotoxicology. Aquatic Toxicology. 59:1-15.
- [7] Depledge MH, Amaral-Mendes JJ, Daniel B, Halbrook RS, Kloepper-Sams P, Moore MN, Peakall DP. 1993. The conceptual basis of the biomarker approach. (ed. Peakall DG, Shugart LR), Biomarkers-Research and Application in the Assessment of Environmental Health, pp. 15-29. Springer, Berlin,
- [8] Hinton DE, Lauren DJ. 1990. Liver structural alterations accompanying chronic toxicity in fishes: potential biomarkers of exposure. (ed. McCarthy JF, Shugart LK), Biomarkers of Environmental Contamination, pp. 17-37. Lewis Publishers, Boca Rota.
- [9] McCarthy JF, Shugart LR. 1991. Biomarkers of Environmental Contamination. Lewis Publishers, CRC Press, Boca Raton, Florida, pp. 1-457.

- [10] Depledge MH. 1989. The rational basis for detection of the early effects of marine pollution using physiological indicators. *Ambio* (Royal Swedish Academy of Sciences) 18:301-302.
- [11] Dixon DR, Pruski AM, Dixon LRJ, Jha AN. 2002. Marine invertebrate eco-genotoxicology: a methodological overview. *Mutagenesis*. 17:495-507.
- [12] Jha AN, Cheung VV, Foulkes ME, Hill, HJ, Depledge MH. 2000. Detection of genotoxins in the marine environment: adoption and evaluation of an integrated approach using the larval stages of the marine mussel, *Mytilus edulis*. *Mutation Research*. 464:213-228.
- [13] Albertini RJ, Nicklas JA, O'Neill JP. 1996. Future research directions for evaluating human genetic and cancer risk from environmental exposures. *Environmental Health Perspectives*. 104 (3):503-510.
- [14] Lyons BP, Stewart C, Kirby MF 2000. 32P-post-labelling analysis of DNA adducts and EROD induction as biomarkers of genotoxin exposure in dab (*Limanda limanda*) from British coastal waters. *Marine Environmental Research*. 50:575-579.
- [15] Kurelec B. 1993. The genotoxic disease syndrome. *Marine Environmental Research*. 35:341-348.
- [16] Kalpaxis DL, Theos C, Xaplanteri MA, Dinos GP, Catsiki, AV, Leotsinidis M. 2004. Biomonitoring of Gulf of Patras, N. Peloponnesus, Greece. Application of a biomarker suite including evaluation of translation efficiency in *Mytilus galloprovincialis* cells. *Environmental Research*. 94:211-220.
- [17] Snape JR, Maund SJ, Pickford DB, Hutchinson TH. 2004. Ecotoxicogenomics: the challenge of integrating genomics into aquatic and terrestrial ecotoxicology. *Aquatic Toxicology*. 67:143-154.
- [18] Nuwaysir EF, Bittner M, Trent J, Barrett JC, Afshari CA. 1999. Microarrays and toxicology: the advent of toxicogenomics. *Molecular Carcinogenesis*. 24:153-159.
- [19] Pennie WD, Tugwood JD, Oliver GJ, Kimber I. 2000. The principles and practice of toxicogenomics: applications and opportunities. *Toxicological Sciences*. 54:277-283.
- [20] ECETOC. 2001. White Paper on Genomics, Transcript Profiling, Proteomics and Metabonomics (GTPM)-An Introduction. ECETOC Document No. 42, European Centre for the Ecotoxicology and Toxicology of Chemicals, Brussels, Belgium, 2001, 27 pp.
- [21] Singh MR, 2007. Impurities-heavy metals: IR perspective. [Last cited on 2009 Aug 10]. Available from <http://www.usp.org/pdf/EN/meetings/asMeetingIndia/2008Session4track1.pdf>.
- [22] Oxford university press.2000. A dictionary of chemistry. Oxford reference [Online]. Oxford University Press.
- [23] Singh R, Gautam N, Mishra A, Gupta R. 2011. Heavy metals and living systems: An overview. *Indian Journal of Pharmacology*. 43(3):246-253.
- [24] Gall EJ, Boyd RS, Rajakaruna N. 2015. Transfer of heavy metals through terrestrial food webs: a review. *Environmental Monitoring and Assessment*. 187: 201 (DOI 10.1007/s10661-015-4436-3).
- [25] Chen F, Ding M, Castranova V, Shi XL. 2001. Carcinogenic metals and NF-kappa B activation. *Molecular and Cellular Biochemistry*. 222:159-171.
- [26] Halliwell B, Gutteridge J. 1999. Free Radicals in Biology and Medicine. 3rd ed. Oxford University Press, USA.
- [27] Leonard SS, Harris GK, Shi XL. 2004. Metal-induced oxidative stress and signal transduction. *Free Radical Biology and Medicine*. 37:1921-1942.
- [28] Shih CM, Ko WC, Wu JS, Wei YH, Wang LF, Chang EE, Lo TY, Cheng HH, Chen CT, 2004. Mediating of caspase-independent apoptosis by cadmium through the mitochondria-ROS pathway in MRC-5 fibroblasts. *Journal of Cell Biology*. 91:384-397.
- [29] Stohs SJ, Bagchi D. 1995. Oxidative mechanisms in the toxicity of metal-ions. *Free Radical Biology and Medicine*. 18:321-336.
- [30] Pekarkova I, Parara S, Holecsek V, Stopka P, Trefil L, Racek J, Rokyta R. 2001. Does exogenous melatonin influence the free radicals metabolism and pain sensation in rat? *Physiological Research*. 50:595-602.
- [31] Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MTD, Telsler J. 2006a. Mutual effect of free radicals, redox metals and antioxidants. *FEBS J*. Submitted for publication.
- [32] Valko M, Morris H, Cronin MTD. 2005. Metals, toxicity and oxidative stress. *Current Medicinal Chemistry*. 1:1161-1208.
- [33] López-Barea J. 1995. Biomarkers in ecotoxicology: an overview. (ed. Degen GH, Seiler JP, Bentley P), *Toxicology in Transition*. pp. 57-79. Springer-Verlag, Berlin.
- [34] Valko M, Rhodes CJ, Moncola J, Izakovic M, Mazura M. 2006b. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-Biological Interactions*. 160:1-40.
- [35] Lushchak VI. 2011. Environmentally induced oxidative stress in aquatic animals *Aquatic Toxicology*. 101:13-30.
- [36] U.S. Environmental Protection Agency 1993. Wildlife exposure factors handbook. U.S. Environmental Protection Agency, Office of Health and Environmental Assessment and Office of Research and Development, EPA/600/R-93/187. Accessed February 2008 at <http://cfpub.epa.gov/ncea/cfm/wefh.cfm>.
- [37] Peakall DB. 1994. The role of biomarkers in environmental assessment (1). Introduction. *Ecotoxicology*. 3(3):157-60.
- [38] Reinecke AJ, Reinecke SA, Musilbono DH, Campan A. 2000. The transfer of lead (Pb) from earthworms to shrews (*Myosorex varius*). *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*. 39:392-397.
- [39] Marques CC, Sánchez-Chardi A, Gabriel SI, Nadal J, Viegas-Crespo AM, Da Luz Mathias M. 2007. How does the great white-toothed shrew, *Crocidura russula*, respond to long-term heavy metal contamination?- a case study. *Science of the Total Environment*. 376:128-133.
- [40] Sánchez-Chardi A, López-Fuster M, Nadal J. 2007a. Bioaccumulation of lead, mercury, and cadmium in the greater white-toothed shrew, *Crocidura russula*, from the Elba Delta (NE Spain): sex- and age-dependent variation. *Environmental Pollution*. 145:7-14.
- [41] Sánchez-Chardi A, Marques CC, Nadal J, Da Luz Mathias M. 2007b. Metal bioaccumulation in the greater whitetoothed shrew, *Crocidura russula*, inhabiting an abandoned pyrite mine site. *Chemosphere*. 67:121-130.
- [42] Sánchez-Chardi A, Peñarroja-Matutano C, Oliveira Riberio CA, Nadal J. 2007c. Bioaccumulation of metals and effects of a landfill in small mammals. Part II. The wood mouse, *Apodemus sylvaticus*. *Chemosphere*. 70: 101-109.
- [43] Sánchez-Chardi A, Oliveira Riberio CA, Nadal J. 2009. Metals in liver and kidneys and the effects of chronic exposure to pyrite mine pollution in the shrew *Crocidura russula* inhabiting the protected wetland of Doñana. *Chemo-*

sphere. 76:387-394.

[44] Sánchez-Chardi A, López-Fuster MJ. 2009. Metal and metalloid accumulation in shrews (Soricomorpha, Mammalia) from two protected Mediterranean coastal sites. *Environmental Pollution*. 157(4):1243-1248.

[45] Adham KG, Al-Eisa NA, Farhood MH. 2011. Risk assessment of heavy metal contamination in soil and wild Libyan jird *Meriones libycus* in Riyadh, Saudi Arabia. *Journal of Environmental Biology*. 32:813-819.

[46] Okati N, Rezaee M. 2013. Heavy metals concentrations in different tissues of Persian Jird (*Meriones persicus*) in Sistan region. *International Research Journal of Applied and Basic Science*, 5(10): 1272-1276.

[47] Levegood JM, Heske EJ. 2008. Heavy metal exposure, reproductive activity, and demographic patterns in white-footed mice (*Peromyscus leucopus*) inhabiting a contaminated floodplain wetland. *Science of the Total Environment*. 389:320-328.

[48] Shore RF, Rattner BA. 2001. *Ecotoxicology of wild mammals*. Chichester, Wiley.

[49] Damek-Poprawa M, Sawicka-Kapusta K. 2003. Damage to the liver, kidney, and testis with reference to burden of heavy metals in yellow-necked mice from areas around steelworks and zinc smelter in Poland. *Toxicology*. 168:1-10.

[50] Al Sayegh Petkovšek S, Kopušar N, Kryštufek B. 2014. Small mammals as biomonitors of metal pollution: a case study in Slovenia. *Environmental Monitoring and Assessment*. 186(7):4261-4274.

[51] Damek-Poprawa M, Sawicka-Kapusta K. 2004. Histopathological changes in liver, kidneys, and testes of bank voles environmentally exposed to heavy metals emissions from the steelworks and zinc smelter in Poland. *Environmental Research*. 96:72-78.

[52] Salińska A, Włostowski T, Oleńska E. 2013. Differential susceptibility to cadmium-induced liver and kidney injury in wild and laboratory-bred bank voles *Myodes glareolus*. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*. 65:324-331.

[53] Metcheva R, Teodorova S, Topashka-Ancheva M. 2003. A comparative analyses of the heavy metal loading of small mammals in different region of Bulgaria I: monitoring points and bioaccumulation features. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 54:176-187.

[54] Topashka-Ancheva M, Metcheva R, Teodorova S. 2003. A comparative analysis of the heavy metal loading of small mammals in different regions of Bulgaria II: chromosomal aberrations and blood pathology. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 54:188-193.

[55] Scheifler R, Coeurdassier M, Morilhat C, Bernard N, Faivre B, Flicoteaux P, Giraudoux P, Noël M, Piotte P, Rieffel D, de Vaufléury A, Badot PM. 2006. Lead concentrations in feathers and blood of common blackbirds (*Turdus merula*) and in earthworms inhabiting unpolluted and moderately polluted urban areas. *Science of the Total Environment*. 371:197-205.

[56] Roodberge M, Klok C, Van Der Hout A. 2008. Transfer of heavy metals in food chain earthworm Black-tailed godwit (*Limosa limosa*): comparison of polluted and reference site in the Netherlands. *Science of the Total Environment*. 406:407-412.

[57] Hamers T, van den Berg JHJ., van Gestel CAM, van Schooten FJ, Murk AJ. 2006. Risk assessment of metals and organic pollutants for herbivorous and carnivorous small mammal food chains in a polluted floodplain (Biesbosch,

The Netherlands). *Environmental Pollution*. 144: 81-89.

[58] Sánchez-Chardi A, Nadal J. 2007. Bioaccumulation of metals and effects of landfill pollution in small mammals. Part II. The great white-toothed shrew, *Crocodyrus russula*. *Chemosphere*. 68:703-711.

[59] Wijnhoven S, Leuven RSEW, Van Der Velde G, Eijsackers HJP. 2008. Toxicological risk for small mammals in a diffusely and moderately polluted floodplain. *Science of the Total Environment*. 406:401-406.

[60] Beyer WN, Pattee OH, Sile L, Hoffman D J, Mulhern BM. 1985. Metal contamination in wildlife living near two zinc smelters. *Environmental Pollution*. 38(A):63-86.

[61] Beyer WN, Storm G. 1995. Ecotoxicological damage from zinc smelting at Palmerton, Pennsylvania. (ed. Hoffman DJ, Rattner BA, Burton GA, Cairns JC), *Handbook of toxicology* pp. 569-608. Boca Raton: CRC Press, Inc.

[62] Hunter BA, Johnson MS, Thompson DJ. 1989. Ecotoxicology of copper and cadmium in a contaminated grassland ecosystem. Tissue distribution and age accumulation in small mammals. *Journal of Applied Ecology*. 26:89-99.

[63] Cooke JA, Andrews SM, Johnson MS. 1990. Lead, zinc, cadmium, and fluoride in small mammals from contaminated grassland established on fluorspar tailings. *Water, Air, and Soil Pollution*. 51:43-54.

[64] Cooke JA, Johanson MS. 1996. Cadmium in small mammals. (ed. Beyer WN, Heinz G H, Redmon- Norwood, AW), *Environmental contaminants in wildlife: interpreting tissue concentration*. pp. 377-399. Boca Raton: CRC Press, Inc.

[65] Chmiel K M, Harisson RM. 1981. Lead content of small mammals at a roadside site in relation to the pathways of exposure. *The Science of the Total Environment*. 17:145-154.

[66] Ieradi LA, Cristaldi M, Mascanzoni D, Cardarelli E, Gross R, Campanella L. 1996. Genetic damage in urban mice exposed to traffic pollution. *Environmental Pollution*. 92:601-614.

[67] Getz LL, Verner L, Prather M. 1977. Lead concentrations in small mammals living near highways. *Environmental Pollution*. 13:151-157.

[68] Marcheselli M, Sala L, Mauri M. 2010. Bioaccumulation of PGEs and other traffic-related metals in populations of the small mammal *Apodemus sylvaticus*. *Chemosphere*. 80(11):1247-1254.

[69] Stansley W, Rosce DE. 1996. The uptake and effects of lead in small mammals and frogs at a trap and skeet range. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*. 30: 220-226.

[70] Lewis LA, Poppenga RJ, Davidson WR, Fisher JR, Morgan KA. 2001. Lead toxicosis and trace element levels in wild birds and mammals at a firearms training facility. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*. 41:208-214.

[71] Bennet JR, Kaufman CA, Koch I, Sova J, Reimer KJ. 2007. Ecological risk assessment of lead contamination at rifle and pistol ranges using techniques to account for site characteristics. *Science of the Total Environment*. 374:91-101.

[72] Bai JF, Shi YH, Cui LP, Tang XY. 2004. The impact of heavy metals from coal mine-spoil heaps on soil. *Journal of Anhui Normal University: Natural Science*. 24:10-15.

[73] Tovar-Sánchez E, Cervantes LT, Martínez C, Rojas E, Valverde M, Ortiz-Hernández ML, Mussali-Galante P. 2012. Comparison of two wild rodent species as sentinels of environmental contamination by mine tailings. *Environmen-*

tal Science and Pollution Research. 19:1677-1686.

[74] Brumbaugh WG, Mora MA, May TW, Phalen DN. 2010. Metal exposure and effects in voles and small birds near a mining haul road in Cape Krusenstern National Monument, Alaska. Environmental Monitoring Assessment. 170:73-86.

[75] Garcia-Sevillano MA, Garcia-Barrera T, Gómez-Ariza JL. 2013. Inorganic mass spectrometry-based metallo-mics for environmental monitoring of terrestrial ecosystems affected by metal pollution using *Mus spretus* as bioindicator. Journal of Integrated Omics A Methodological Journal. 3(2):88-98.

[76] Topashka-Ancheva M, Avramova F, Simeonova V, Metcheva R, Atanasov N, Angelova A, Stambolova M. 1995. Cytogenetical and biochemical studies on the effect of heavy metals on the organism of *Microtus guentheri* (Microtinae, Rodentia) in an ecologo-toxicological experiment. (Ed. Annuaire de L'Universite de Sofia St. Kliment Ohridski, Faculte de biologie), Vol. 88. Presses Uuniversitaires St. Kliment Ohridski, Sofia, pp. 69-80.

[77] Topashka-Ancheva M, Metcheva R, Atanasov N. 1998. Bioaccumulation and clastogenic effects of industrial dust on *Microtus Guentheri* (Microtinae, Rodentia) in an ecologo-toxicological experiment. Acta Zoologica Bulgari-ca. 50: 117-122

[78] Topashka-Ancheva M, Metcheva R, Teodorova S, 2003. A comparative analysis of the heavy metal loading of small mammals in different regions of Bulgaria II: chromosomal aberrations and blood pathology. Ecotoxicology and Environmental Safety. 54:188-193.

[79] Blagojević J, Jovanović V, Stamenković G, Jojić V, Bugarski-Stanojević V, Adnađević T, Vujošević M. 2012. Age Differences in Bioaccumulation of Heavy Metals in Populations of the Black-Striped Field Mouse, *Apodemus agrarius* (Rodentia, Mammalia). International Journal of Environmental Research. 6(4):1045-1052.

[80] Singh NP, McCoy MT, Tice RR, Schneider EL. 1988. A simple technique for quantitation of low levels of DNA damage in individual cells. Exp. Cell Res. 175 (1): 184-191.

[81] Tice RR, Andrews PW, Singh NP. 1990. The single cell gel assay. A sensitive technique for evaluating intercel-lular differences in DNA damage and repair. (ed. Sutherland BM, Wordhead AD), pp. 291-302. DNA Damage and Re- pair in Human Tissues. Plenum, New York, NY.

[82] De Lapuente J, Lourenço J, Mendo SA, Borrás M, Martins MG, Costa PD, Pacheco M. 2015. The Comet Assay and its applications in the field of ecotoxicology: a mature tool that continues to expand its perspectives. Frontiers in Genetics, 4(6):180. (DOI: 10.3389/fgene.2015.00180).

[83] Talmage SS, Walton BT. 1991. Small mammals as monitors of environmental contaminants. Environmental and Contamination Toxicology. 119:47-108.

[84] León G, Pérez LE, Linares J C, Hartmann A, Quintana M. 2007. Genotoxic effects in wild rodents (*Rattus rat-tus* and *Mus musculus*) in an open coal mining area. Mutation Research. 630:42-49.

[85] McBee K, Bickham JW. 1998. Petrol-chemical related DNA damage in wild rodents detected by flow cytometry. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology. 40: 343-349.

[86] Cristaldi M, D'Arcangelo E, Ieradi LA, Mascanzoni D, Mattei T, Van Axel Castelli I. 1990. 137-Cs determination

and mutagenicity tests in wild *Mus musculus domesticus* before and after the Chernobyl accident. Environmental Pollution. 64:1-9.

[87] Tull-Singleton S, Kimball S, McBee K 1994. Cor-relative analy- sis of heavy metal bioconcentration and ge-netic damage in white- footed mice (*Peromyscus leucopus*) from hazardous waste site. Bulletin of Environmental Con-tamination and Toxicology. 52: 667-672.

[88] Ieradi LA, Moreno S, Bolivar JP, Cappai A, Bene-detto A Di, Cristaldi M. 1998. Free-living rodents as bio-indicators of genetic risk in natural protected areas. Environ-mental Pollution. 102:265-268.

[89] Cagnin M, Moreno S, Aloise G, Garofalo G, Vil-lafuerte R, Gaona P, Cristaldi M. 1998. A comparative study of Spanish and Italian terrestrial small mammal coenoses of different biotopes in Mediterranean Peninsular tip regions. Journal of Biogeograph. 25(6).

[90] Mitkovska V, Chassovnikarova T, Atanasov N, Dimitrov H. 2012. DNA damage detected by Comet assay in *Apodemus flavicollis* (Melchior, 1834) from Strandzha Natu-ral Park. Acta Zoologica Bulgarica. (4):155-158.

[91] Lourenço J, Pereira R, Gonçalves F, Mendo S. 2013. Metal bioaccumulation, genotoxicity and gene expression in the European wood mouse (*Apodemus sylvaticus*) inhabit-ing an abandoned uranium mining area. Science of the Total Environment. 443:673-680.

[92] Gold LA, Ames BN. 1990. Too many rodent car-cinogens? Science. 249:970-997.

[93] Da Silva J, De Freitas TRO, Heuser V, Marinho J, Erdtmann B. 2000a. Genotoxicity biomonitoring in coal re-gions using wild rodent *Ctenomys torquatus* by Comet As-say and Micronucleus Test. Environmental and Molecular Mutagenesis. 35:270-278.

[94] Chen LC, Lam HF, Kim EJ, Guty J, Amdur MO. 1990. Pulmonary effects of ultrafine coal fly ash inhaled by guinea pigs. Toxicology and Environmental Health. 29-32:169-184.

[95] Ong T, Whong WZ, Xu J, Burchell B, Green FHY, Lewis T. 1985. Genotoxicity studies of rodents exposed to coal dust and diesel emission particulates. Environmental Research. 37:399-409.

[96] Persson SA, Ahlberg M, Berghem L, Konberg E, Nordberg GF, Bergman F. 1988. Long-term carcinogenicity study in Syrian golden hamster of particulate emissions from coal- and oil-fired power plants. Environmental Health Per-spectives. 77:109-120.

[97] Cabarcas-Montalvo M, Olivero-Verbel J, Corrales-Aldana H. 2012. Genotoxic effects in blood cells of *Mus musculus* and Iguana iguana living near coal mining areas in Colombia. Science of the Total Environment. 416:208-214.

[98] Da Silva J, de Freitas TRO, Marinho JR, Speit G, Erdtmann B. 2000b. An alkalinesingle-cell gel electropho-resis (comet) assay for environmental biomonitoring with native rodents. Genetic and Molecular Biology. 23:241-245.

[99] Festa F, Cristaldi M, Ieradi LA, Moreno S, Cozzi R. 2003. The Comet assay for the detection of DNA damage in *Mus spretus* from Doñana National Park. Environmental Research. 91:54-61.

[100] Mateos S, Daza P, Dominguez I, Cárdenas JA, Cortès F. 2008. Genotoxicity detected in wild mice living in a highly polluted wetland area in south western Spain. Environmental Pollution. 153: 590-593.

[101] Da Silva Júnior FMR, Monarca RI, Dias D, Ra-malhinho MG, Mathias ML, Muccillo-Baisch AL. 2013. Geno- and Cyto-toxicity in Free-Living Rodent *Mus spretus*



Exposed to Simulated Onshore Oil Spill. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology. 91:465-468.

[102] Knopper LD, Mineau P, McNamee JP, Lean DRS. 2005. Use of comet and micronucleus assays to measure genotoxicity in meadow voles (*Microtus pennsylvanicus*) living in golf course ecosystems exposed to pesticides. Eco-

toxicology. 14:323-335.

[103] Andr  s P, Kri  zani I. 2006. Free-living rodents as monitors of environmental contaminants at a polluted mining dump area. Carpathian Journal of Earth and Environmental Sciences. 1(2): 51-62.

**Tablo 1:** Comet yöntemi ile kirlil alanlarda doğal olarak yaşayan küçük memeli türlerinde meydana gelen genetik hasarın araştırılmasına dayalı  alı malar

Referans	Küçük Memeli Türü	Kirlilik Faktörü	Lokalite	Genotoksisite Testi	Sonuçlar
Lourenço vd., 2013	<i>Apodemus sylvaticus</i>	Terk edilmiş bir uranyum madeni alanındaki radyonüklidler ve metallere	Cunha Baixa Uranyum madeni alanı, Portekiz	Kanda Alkali Comet Testi	Uranyum (U) ve radyon�kleotidlere maruz kalan bireylerin kan hücrelerine DNA bütünlüğünde bozulmalar ve hasar olduğu saptanmıştır. Ayrıca bu bireylerin dokularında kadmium (Cd) ve U seviyeleri yüksek çıkmıştır.
Mitkovska vd., 2012	<i>Apodemus flavicollis</i>	Endüstriyel gaz salınımı ve diğer nedenlerle hava kirliliği	Strandzha Ulusal Parkı, Bulgaristan	Kanda Alkali Comet Testi	Polimetale tozları ile kirlenen bölgelerde, bu toz içeriklerinde kurşun (Pb), kadmium (Cd) �inko (Zn) bulunduğu saptanmıştır ve endüstriyel gaz salınımı nedeniyle kirliliğe maruz kalan alandan toplanan örneklere DNA hasarı yüksek çıkmıştır.
Cabarcas-Montalvo vd., 2012	<i>Mus musculus</i>	Kömür madeni	La Loma ve La Jagua de Ibirico, Kolombiya	Kanda Alkali Comet Testi	Kömür madenine yakın alanlardan yakalanan bireylerden alınan kan örneklere DNA hasarı kontrol grubuna oranla daha yüksek çıkmıştır.
Tovar-S�nchez vd., 2012	<i>Sentinel (Peromyscus melanophrys) türü ve nonsentinel (Baiomys musculus) türü</i>	Maden atıkları	Morelos, Mexico	Kanda Alkali Comet Testi	Kirliliđe maruz kalan bölgelerden toplanan bireylerde çinko, nikel, demir ve manganez birikim oranları ve genetik hasar yüksek çıkmıştır. Fakat <i>Baiomys musculus</i> türünde genetik hasar daha yüksek çıkmıştır ve bu türün biyobirikime neden olan kirliliklerin (metal kirliliği gibi) saptanmasında biyobelirteç olarak kullanılmaya daha uygun olduğu belirtilmiştir.
Mateos vd., 2008	<i>Mus spretus</i>	Zehirli maden atıklarının dökülmesi	Huelva �hri yakınları İspanya	Kanda Alkali Comet Testi	Maden atıkları ile kirlenen bölgelerden toplanan bireylerin kan hücrelerinde DNA hasarı gözlenmiştir.
Le�n vd., 2007	<i>Rattus rattus ve Mus musculus</i>	Kömür madeni	Municipio de Puerto Libertador, Güney Dođu Cordoba, Kolombiya	Kanda Alkali Comet Testi	DNA hasar indeksi iki türde de kirliliği yüksek olan yerlerden toplanan türlerde yüksek çıkmıştır ve her iki türde kömür madeninin neden olduğu kirlilik nedeniyle ortaya çıkabilecek DNA hasarını gösterebilmek açısından hassas organizmalar olarak belirlenmiştir.
Knopper vd., 2005	<i>Microtus pennsylvanicus</i>	Pestisit ile kirlenme (fungisit, Dacconil)	Ottawa/Gatineau, Kanada (Golf sahası)	Kanda Alkali Comet Testi	Pestisit uygulamasının yapıldığı alanlardan elde edilen bireylerde doza bağlı DNA hasarı gözlenmiştir.
Festa vd., 2003	<i>Mus spretus</i>	Pirit madeninden yayılan asidik su ve toksik metal içerikli atık	Doňana Ulusal Parkı, İspanya	Periferik Kan lökositlerinde Comet Testi	1998 yılında yaşanan kirlilik nedeniyle aynı yıl toplanan örneklere DNA hasarı gözlenirken, 1999 yılında toplanan örneklere DNA hasarı gözlenmemiştir.
Da Silva vd., 2000a ve 2000b	<i>Ctenomys torquatus</i>	Kömür madeni	Candiota ve Buti� alanlarında (2000a), Pelotas ve Candiota (2000b), Brezilya	Kanda Alkali Comet Testi	Kömür madenine yakın alanlardan yakalanan bireylerden alınan kan örneklere DNA hasarı kontrol grubuna oranla daha yüksek çıkmıştır.