

## Determination of The Effects of 2,4-Dichlorophenoxy Acetic Acid on Hematological Parameters in Rats Given Alcohol

Mehmet BAŞEĞMEZ<sup>1</sup>, Muhammed ETYEMEZ<sup>2</sup>, İbrahim DURMUŞ<sup>3</sup>, Abdullah ERYAVUZ<sup>4\*</sup>

<sup>1</sup>Pamukkale University, Acıpayam Vocational High School, Laboratory and Veterinary Health, 20100, Denizli, Turkey

<sup>2</sup>Mustafa Kemal University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Physiology, 31000, Hatay, Turkey

<sup>3</sup>Afyon Kocatepe University, Şubut Vocational High School, Laboratory and Veterinary Health, 03100, Afyonkarabısar, Turkey

<sup>4</sup>Afyon Kocatepe University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Physiology, Afyonkarabısar, Turkey

### ABSTRACT

In modern agriculture, many compounds such as pesticides, herbicides and various kinds of fertilizers are frequently used in the fields to increase crop production. However, among these compounds, widespread usage of synthetic herbicides for agricultural purpose has an adverse effect on living organisms and can lead to several hematological and neurological complications in human and animals. Alcohol consumption is one of the potential risk factors in cardiovascular disease. The aim of this study is to investigate the effects of 2,4-dichlorophenoxy acetic acid (2,4-D), used commonly by farmers as a herbicide, on hematological changes in rats given alcohol. Totally 28 Sprague Dawley male rats were randomly divided into four groups containing 7 animals per group. While first group served as a control, experimental groups were as follows; herbicide group (5 mg/kg, 2,4- D, orally), alcohol group (3 mg/kg ethyl alcohol, orally), herbicide plus alcohol group (5 mg/kg 2,4-D and 3 mg/kg ethyl alcohol, orally). In the end of experimental period lasted totally 60 days, the blood samples were taken from animals by cardiac puncture under anesthesia. In the blood samples, erythrocyte (RBC), total leukocytes (WBC) and percentage of the different white blood cells, hematocrit value (HCT), hemoglobin concentration (HGB) and platelet counts (PLT) were determined. 2,4-D increased the WBC, percentage of lymphocyte, monocyte and granulocyte numbers. Alcohol and alcohol plus 2,4-D application reduced RBC numbers, HGB, HCT value and PLT concentration. The mean corpuscular hemoglobin level (MCH) was increased by alcohol, 2,4 D and alcohol plus 2,4 D treatments. We concluded that 2,4-D application in rats given alcohol leads to changes in hematological parameters.

**Keywords:** 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid, alcohol, hematological parameters, rat.

\*\*\*

### Alkol Verilen Sıçanlarda 2,4-Diklorofenoksi Asetik Asitin Hematolojik Parametreler Üzerine Etkilerinin Belirlenmesi

#### ÖZ

Modern tarımda, pestisit, herbisit ve çeşitli gübreler gibi birçok bileşik, bitki üretimini arttırmak için sıklıkla kullanılmaktadır. Bununla birlikte, bu bileşikler arasında, sentetik herbisitlerin tarımsal amaçlı yaygın kullanımı, canlı organizmalar üzerinde olumsuz bir etkiye sahip olup, insan ve hayvanlarda çeşitli hematolojik ve nörolojik komplikasyonlara yol açabilmektedir. Alkol tüketimi, kardiyovasküler hastalıkta potansiyel risk faktörlerinden biridir. Bu çalışmanın amacı, yaygın olarak çiftçiler tarafından herbisit olarak kullanılan 2,4-diklorofenoksi asetik asidin (2,4-D), etil alkol verilen sıçanlarda hematolojik değişikliklere etkisini araştırmaktır. Toplam 28 Sprague Dawley erkek sıçan rastgele olarak grup başına 7 hayvan içerecek şekilde dört gruba ayrıldı. Birinci grup kontrol olarak görev yaparken, deney grupları şöyledir; herbisit grubu (5 mg / kg, 2,4 D, oral yoldan), alkol grubu (3 mg / kg etil alkol, oral yoldan), herbisit + alkol grubu (5 mg / kg 2,4D ve 3 mg / kg etil alkol, oral yoldan). Altmış günlük toplam deney süresi sonunda kan örnekleri anestezi altında kalp punksiyonu ile hayvanlardan alındı. Kan örneklerinden eritrosit (RBC), toplam lökosit sayısı (WBC) ve yüzde oranları ile trombosit sayısı (PLT), hematokrit değeri (HCT) ve hemoglobin (HGB) düzeyi belirlendi. 2,4-D uygulanan hayvanlarda, WBC, lenfosit, monosit ve granülosit yüzdelik değerlerinin arttığı bulundu. Alkol ve alkol ile birlikte 2,4-D uygulanan hayvanlarda, RBC, HGB, HCT ve PLT sayılarının azaldığı tespit edildi. Alkol, 2,4-D ve alkol ile birlikte 2,4 -D uygulamalarının, her bir kırmızı kan hücreesindeki ortalama hemoglobinin seviyesini (MCH) arttırdığı gözlemlendi. Sonuç olarak, alkol verilen sıçanlarda 2,4-D uygulamasının hematolojik parametrelerde değişikliklere neden olduğu sonucuna varıldı.

**Anahtar Kelimeler:** 2,4-diklorofenoksi asetik asit, alkol, hematolojik parametreler, rat

To cite this article: Başeğmez M, Etyemez M, Durmuş İ, Eryavuz A. Determination of The Effects of 2,4-Dichlorophenoxy Acetic Acid on Hematological Parameters in Rats Given Alcohol. Kocatepe Vet J. (2020) 13(1):38-44.

Submission: 12.11.2019 Accepted: 01.02.2020 Published Online: 10.02.2020

ORCID ID; MB: 0000-0002-9994-1251, ME: 0000-0003-0497-1878, İD: 0000-0003-1360-8843, AE: 0000-0001-8602-2400

\*Corresponding author e-mail: eryavuz@aku.edu.tr

## GİRİŞ

Dünyada yaşayan insan nüfusundaki hızlı artışın yol açtığı gıda talebinin karşılanması için hem tarımsal hem de hayvansal üretimin artırılması, geliştirilmesi ve iyileştirilmesi gerekmektedir. Günümüz modern tarımsal faaliyetlerinde, üretimin artırılması ve iyileştirilmesi için pestisitler, herbisitler ve çeşitli gübreler gibi birçok kimyasal bileşik yaygın olarak kullanılmaktadır. Bununla birlikte, bu kimyasal bileşiklerin kullanılmasının yaygınlaşması, uygulandığı üretim alanlarında bu kimyasallara maruz kalmış insan ve hayvanların sağlığında olumsuz etkilere yol açabileceği yönünde endişelere de yol açmıştır (Tiryaki ve ark. 2010). Nitekim, bitkilerin azot ihtiyacını karşılamak amacıyla toprağa katılan ve dünyada yaygın kullanılan nitrattlı gübrelerin, yer altı sularına karışarak insan ve hayvan sağlığını tehdit ettiği ortaya konmuştur (Vural, 2005). Bu kimyasal bileşiklerden biri olan ve tüm dünya genelinde yabancı otların yok edilmesi amacıyla zirai mücadelede yaygın olarak kullanılan herbisitler de insan ve hayvan sağlığını tehdit ettiği ileri sürülen kimyasal bileşiklerdendir (Teixeira ve ark. 2007). Herbisitlerin ve parçalanma ürünlerinin hücrelerde yol açtığı zararların incelenmesi ve ortaya çıkartılması önem arz etmektedir. Amerika Birleşik Devletleri'nde yaşayan insanlarda yapılan bir araştırmada, serumda 3 ila 65 µg/L düzeyinde pestisit kalıntısı bulunduğu tespit edilmiştir (Hill ve ark. 1995). Tüm pestisitlerde olduğu gibi herbisitler de uygulama sonrası kimyasal ve biyolojik olarak parçalanmasına rağmen bile beklenenden daha uzun süre toprak ve bitkilerde kalıcı olabilmektedir (Tiryaki ve ark., 2010). İnsan ve hayvanlar gerek ilaçlama esnasında gerekse kalıntı içeren bitkilerin tüketilmesi ve içme sularının kullanılmasıyla bu maddelere maruz kalabilmekte ve organizmada nörolojik ve hematolojik yan etkilere sebep olabilmektedir. Nitekim, herbisite maruz kalan balıkların kan parametrelerinde önemli derecede değişiklikler gözlemlendiği bildirilmektedir (Gholami-Seyedkolaei ve ark. 2013).

Tarımsal faaliyetlerde yabancı otları kontrol etmek için genel uygulanabilirliği ve düşük maliyeti nedeniyle dünyada en yaygın kullanılan herbisitlerden biri de 2,4-diklorofenoksiasetik asittir (2,4-D) (Song, 2014). Bu maddeye maruz kalan insanlarda bir dizi biyolojik etkilere sahip olduğunun ortaya konmasından dolayı (Lerda ve Rizzi, 1991), 2,4-D'nin neden olduğu yan etkilerinin mekanizmaları in vitro ve in vivo hala araştırılmaktadır. Nitekim, 2,4-D'nin sinir sistemi (Bortolozzi ve ark., 2004), üriner sistem (Uyanıkgil ve ark., 2009) ve eritrositlere (Tayeb ve ark., 2010) olan etkilerine yönelik çalışmalar yapılmıştır. 2,4-D'nin amin ve ester formlarında karsinojenik bir madde olan dioksinin bulunması bu maddeyi çok daha tehlikeli bir hale getirmektedir. Nitekim, 2,4-D'ye uzun süreli maruz kalan köpek ve farelerde karaciğer ile böbrek lezyonlarına rastlandığı (Hayes ve ark., 1991), 2,4-D

kullanılan golf sahalarında oyundan önce golf toplarını yalayan oyunculara karaciğer iltihabı (hepatitis) olgularının gözlemlendiği bildirilmektedir (Leonard ve ark. 1997). Bununla birlikte, organizmada ana taşıyıcı olarak görev yapan kanda 2,4-D'nin yol açtığı hematolojik değişikliklere yönelik çalışma sayısı oldukça yetersizdir.

Canlılarda hematolojik ve biyokimyasal parametrelerdeki değişimler; pek çok klinik ve subklinik hastalıkların ayırıcı tanısı, şiddetinin belirlenmesi, seyrinin takibi ve tedavinin ulaştığı düzeyin tespiti ile vücuttaki metabolik olayları ve organların fonksiyonlarını yansıması bakımından hekimlere ve araştırmacılara önemli bilgiler vermektedir. Ayrıca, toksikolojik araştırmalar ve çevresel faktörlerin yol açtığı fizyolojik ve patolojik değişikliklerin olası bir biyolojik işareti olarak izlenen hematolojik değerlerde meydana gelen değişimler, sağlıklı yaşamın kontrol programları içerisinde ve çevre ile beslemenin kan yapan organlara etkisinde de başvurulan parametreler arasında yer almaktadır (Gholami-Seyedkolaei ve ark. 2013). Bu nedenle, uygulandığı bölgelerde yaşayan insan ve hayvanların maruz kalmaları halinde, 2,4-D'nin organizmada ana taşıyıcısı olarak görev yapan kanda yol açtığı hematolojik değişikliklerin ortaya konmasını gerektirmektedir.

Tüm dünyada insanlar tarafından zararlı olduğu bilinmesine rağmen bile alkol tüketimi yapılmaktadır. Alkol tüketiminin hematolojik değerleri etkilediği bilinmektedir (Tyulina ve ark. 2000; 2002). Bununla birlikte, alkol tüketen bireylerin yabancı otlarla mücadelede yaygın olarak kullanılan herbisite maruz kalmalarına bağlı hematolojik parametrelerde meydana gelen değişikliklere yönelik bir veri bulunmamaktadır. Bu nedenle, bu çalışma, alkol verilen sıçanların 2,4-D alımına maruz kalmalarına bağlı hematolojik parametrelerdeki değişimlerin belirlenmesi amacıyla yapıldı.

## MATERYAL ve METOT

Çalışmada hayvan materyalini AKÜ Deney Hayvanları Araştırma ve Uygulama Merkezinden temin edilen 10-12 haftalık yaşta, 28 adet Sprague Dawley türü erkek (yaklaşık 300-400 g) oluşturdu. Çalışma boyunca hayvanlara yapılacak tüm müdahaleler Afyon Kocatepe Üniversitesi Deney Hayvanları Yerel Etik Kurulu tarafından onay (etik numarası: 49533702/09) doğrultusunda gerçekleştirildi. Hayvanların bakımı Afyon Kocatepe Üniversitesi Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezinde gerçekleştirildi. Sıçanların beslenmesinde standart rat yemi ve içme suyu her gün taze olarak verildi. Çalışmada kullanılacak olan 2,4-diklorofenoksiasetik asit (2,4-D) (Amel ve ark., 2016) ve etil alkol (Kamoun ve ark. 2017) verilme miktarları daha önce yapılan çalışmalar esas alınarak belirlendi.

2,4-diklorofenoksi asetik asit (2,4-D) ticari müstahzarı şeklinde (ESTER'H, Hektaş Tic. A.Ş., Kocaeli, Türkiye), alkol ise kimyasal madde olarak (Sigma-Aldrich, MO, USA) temin edildi.

Hayvanlar rastgele örnekleme metodu ile her grupta 7 sıçan olacak şekilde 4 gruba ayrıldı ve çalışmada gruplara uygulanan yöntem Tablo 1 de verildi.

**Tablo 1.** Gruplar, gruptaki hayvan sayıları ve uygulama yöntemi.  
**Table 1.** Groups, numbers of animals in groups and the application method.

Gruplar	Gruptaki Hayvan Sayısı	Uygulama Yöntemi
Grup I	7	Kontrol
Grup II	7	Alkol grubuna; 3 g/kg dozunda Etil Alkol gastrik gavaj ile verildi.
Grup III	7	2,4-diklorofenoksi asetik asit (2,4-D) grubuna; 5mg/kg 2,4- (2,4-D) (0,5 ml distile su içinde çözdürülüp) gastrik gavaj ile verildi.
Grup IV	7	2,4-diklorofenoksi asetik asit (2,4-D) + alkol grubuna; 2,4- (2,4-D) 5 mg/kg dozunda ve 3 g/kg dozunda etil alkol gastrik gavaj ile verildi.

Son uygulamaları takiben 24 saat sonrasında hayvanlardan ksilazin ve ketamin anestezisi altında intrakardiyak olarak analizler için kan örnekleri alındı. Alınan kan örneklerinin; Afyon Kocatepe Üniversitesi, Veteriner Sağlık Uygulama ve Araştırma Merkezinde bulunan kan sayım cihazında (Mindray BC2800 VET, Çin) ölçümleri yapılarak; lökosit (WBC), eritrosit (RBC) ve trombosit (PLT) sayıları, hemoglobini (HGB) miktarı, hematokrit (HCT) değeri ile ortalama eritrosit hacmi (MCV), ortalama eritrosit hemoglobini (MCH) ve ortalama eritrosit hemoglobini düzeyi (MCHC) değerleri belirlendi. Araştırmadan elde edilen sonuçlar, SPSS 20.0 istatistik paket programında tek yönlü ANOVA testi uygulanarak yapıldı. İstatistiksel fark bulunan sonuçlara Duncan testi uygulandı, veriler "ortalama ± standart sapma" olarak ifade edildi. İstatistiksel anlamlılık için  $p < 0.05$  kabul edildi.

## BULGULAR

Çalışmada tüm gruplarda elde edilen WBC, % lenfosit, % monosit, % granulosit, RBC, HGB, HCT, MCV, MCH, MCHC, % RDW, PLT, MPV, PDW, %

PCT'ye yönelik veriler Tablo 2'de verilmiştir. Çalışmada, 2,4-D uygulaması WBC'yi önemli ( $P < 0.05$ ) oranda artırdı. Alkol ve 2,4-D'nin birlikte uygulamasının; RBC ( $P < 0.001$ ), HGB, HCT ( $P < 0.05$ ) ve PLT ( $P < 0.01$ ) sayılarında Kontrol grubu hayvanlarınkine göre önemli düzeyde düşüşe neden olduğu gözlemlendi. Bununla birlikte, alkol ve 2,4-D'nin birlikte uygulamasının yalnız alkol verilenlere göre, RBC sayısını önemli ( $P < 0.05$ ) ve HGB ile HCT düzeylerini ise önemsiz ( $P > 0.05$ ) düzeyde düşürdüğü bulundu (Tablo 2). Alkol ve 2,4-D'in hem ayrı hem de birlikte kullanımı, Kontrol grubu hayvanlardakine göre MCH seviyesinde önemli düzeyde ( $P < 0.05$ ) artışa sebep oldu. Ayrıca granülosit ve monositlerin sayılarının; alkol verilen gruplarda etkilenmediği, sadece 2,4-D uygulaması yapılan hayvanlarda Kontrol grubu hayvanlardakine göre önemli ( $P < 0.05$ ), lenfosit sayılarında ise önemsiz ( $P > 0.05$ ) düzeyde yüksek olduğu görüldü. Alkol ile birlikte 2,4-D uygulaması yapılan hayvanlarda; lenfosit ve granülosit sayılarının, Kontrol grubu hayvanlardaki değerlerden istatistiksel anlamda önemsiz ( $P > 0.05$ ) düzeyde düşük olduğu görüldü (Tablo 2).

## TARTIŞMA

Laboratuvar hayvanlarının yapısı ve işlevi insan ve hayvanların hematopoietik hücre yenilenmesinin prensibi ile karşılaştırılabilir olduğu için, bu hayvanlarda yapılan hematolojik, kan biyokimyasal ve histoloji çalışmalarının sonuçları, bazı durumlarda insan ve hayvanlardaki kimyasal toksisiteyi tahmin etmek için yararlı olabilir. Nitekim, bu hayvanların kullanıldığı çalışmalarda; davranış, genetik, anatomik, fizyolojik ve histolojik yapı ve mekanizmalardaki değişiklikleri, insanlar da dahil olmak üzere tüm memelilere de genelleyerek değerlendirilmeler yapılmaktadır (Taşlıdere ve ark. 2013, Linge ve ark. 2015, Tan ve ark. 2019). Bu nedenle, deney hayvanlarında hematolojik değişikliklerin ortaya konması, çevresel toksik etkilerin organizmadaki değişikliklere katkısını gösterebilir.

Kandaki değişimler toksik stres için ideal bir gösterge olması nedeniyle, herbisitlerin hematolojik değerler üzerindeki etkilerini ve bu değerlere alkol alımının yol açtığı değişiklikleri belirlemek amacıyla yapılan bu çalışmada; hayvanlara daha önce yapılan çalışmalar esas alınarak 2,4-diklorofenoksi asetik asit (2,4-D) (Amel ve ark., 2016) ve etil alkol (Kamoun ve ark. 2017) verildi. Alkol alımının biyokimyasal / hematolojik göstergelerini inceleyen daha önceki çalışmalar (Shaper ve ark., 1985, Armutçu ve ark. 2003), belirli meslek gruplarına veya alkolle ilgili sorunlara sahip olanlarla sınırlı kalmıştır. Bu çalışmada alkol alımıyla birlikte herbisite maruz kalmanın hematolojik parametrelerde oluşturduğu etkiler tespit edilmiştir.

**Tablo 2.** Erkek sıçanlarda 3 g/kg dozunda Etil Alkol, 5mg/kg 2,4-diklorofenoksi asetik asit (2,4-D) ve 3 g/kg dozunda Etil Alkol + 5mg/kg 2,4-diklorofenoksi asetik asit (2,4-D) uygulamasının hematolojik parametrelerine etkisi (Ortalama  $\pm$  standart sapma;  $n=7$ ).

**Table 2.** The effects of ethyl alcohol at dose 3g/kg, 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) at levels of 5 mg/kg and ethyl alcohol (3g/kg) plus 2,4-D (5 mg/kg) on hematological parameters in male rats (Mean $\pm$ standard deviation;  $n=7$ ).

Parametre	KONTROL	ALKOL	2.4D	ALKOL+2.4 D
WBC X10 <sup>9</sup> /L	20,91 $\pm$ 3,72 <sup>b</sup>	19,78 $\pm$ 4,83 <sup>b</sup>	47,37 $\pm$ 9,58 <sup>a</sup>	15,03 $\pm$ 2,47 <sup>b</sup>
LENF X10 <sup>9</sup> /L	15,21 $\pm$ 3,39 <sup>ab</sup>	12,76 $\pm$ 3,06 <sup>b</sup>	25,21 $\pm$ 4,23 <sup>a</sup>	10,68 $\pm$ 2,51 <sup>b</sup>
MON X10 <sup>9</sup> /L	0,47 $\pm$ 0,08 <sup>b</sup>	0,43 $\pm$ 0,12 <sup>b</sup>	1,30 $\pm$ 0,29 <sup>a</sup>	0,60 $\pm$ 0,17 <sup>b</sup>
GRAN X10 <sup>9</sup> /L	5,22 $\pm$ 1,72 <sup>b</sup>	6,58 $\pm$ 4,05 <sup>b</sup>	20,85 $\pm$ 5,96 <sup>a</sup>	3,75 $\pm$ 0,98 <sup>b</sup>
LENF%	72,67 $\pm$ 7,24	68,46 $\pm$ 12,08	56,80 $\pm$ 6,60	67,51 $\pm$ 10,42
MON%	2,50 $\pm$ 0,49	2,35 $\pm$ 0,44	2,67 $\pm$ 0,31	4,73 $\pm$ 1,57
GRAN%	24,82 $\pm$ 6,86	29,18 $\pm$ 12,01	40,52 $\pm$ 6,46	27,75 $\pm$ 9,34
RBC X10 <sup>12</sup> /L	8,01 $\pm$ 0,10 <sup>a</sup>	7,31 $\pm$ 0,15 <sup>b</sup>	7,70 $\pm$ 0,10 <sup>ab</sup>	6,85 $\pm$ 0,19 <sup>c*</sup>
HGB g/dl	16,95 $\pm$ 0,17 <sup>ab</sup>	16,26 $\pm$ 0,21 <sup>bc</sup>	17,40 $\pm$ 0,29 <sup>a</sup>	15,76 $\pm$ 0,44 <sup>c</sup>
HCT %	35,55 $\pm$ 3,04 <sup>a</sup>	32,83 $\pm$ 2,66 <sup>ab</sup>	30,02 $\pm$ 0,70 <sup>ab</sup>	27,95 $\pm$ 0,89 <sup>b</sup>
MCV fL	44,08 $\pm$ 3,33	44,81 $\pm$ 3,08	39,00 $\pm$ 0,43	40,88 $\pm$ 0,54
MCH pg	21,11 $\pm$ 0,20 <sup>b</sup>	22,20 $\pm$ 0,35 <sup>a</sup>	22,52 $\pm$ 0,23 <sup>a</sup>	22,96 $\pm$ 0,30 <sup>a*</sup>
MCHC g/dL	49,34 $\pm$ 3,33 <sup>b</sup>	50,75 $\pm$ 3,16 <sup>ab</sup>	57,95 $\pm$ 0,63 <sup>a</sup>	56,41 $\pm$ 0,54 <sup>ab</sup>
RDW %	11,50 $\pm$ 0,16	12,01 $\pm$ 0,23	11,87 $\pm$ 0,16	11,71 $\pm$ 0,32
PLT X 10 <sup>9</sup> /L	1131,57 $\pm$ 119,21 <sup>a</sup>	835,50 $\pm$ 67,14 <sup>b</sup>	803,71 $\pm$ 35,56 <sup>b</sup>	734,66 $\pm$ 61,34 <sup>b#</sup>
MPV fL	4,25 $\pm$ 0,20	4,32 $\pm$ 0,28	4,18 $\pm$ 0,06	4,31 $\pm$ 0,18
PDW	15,72 $\pm$ 0,16	15,76 $\pm$ 0,15	15,65 $\pm$ 0,07	15,70 $\pm$ 0,10
PCT %	0,42 $\pm$ 0,04	0,36 $\pm$ 0,05	0,33 $\pm$ 0,01	0,32 $\pm$ 0,03

a,b,c,d,e: Aynı sütunda farklı harfleri taşıyan değerler istatistiksel olarak önemlidir (p<0.05). WBC: Lökosit, LENF: lenfosit, MON: monosit, GRAN: granulosit, RBC: Eritrosit, HGB: hemoglobin, HCT: hematokrit, MCV: ortalama eritrosit hacmi, MCH: her bir kırmızı kan hücresindeki ortalama hemoglobin, MCHC: belli bir miktar kırmızı kan hücresindeki hemoglobin yoğunluğu, RDW: kırmızı kan hücresi dağılım genişliği, PLT: trombosit, MPW: kandaki trombositlerin ortalama boyutu, PDW: trombosit dağılım genişliği, PCT: prokalsitonin, P<0.05, \*P<0.001, #P<0.01

Lökosit sayısı klinik pratikte inflamasyonun basit, kolay ve ekonomik bir belirleyicisidir. Enfeksiyon ve enflamasyonun bir belirteci olarak hizmet etmenin yanı sıra, lökosit sayımı, son zamanlarda, bazı hastalıkların yararlı bir belirleyicisi haline gelmiştir (Ishizaka ve ark. 2004). Daha yüksek lökosit sayısı bile normal bir aralıkta, kardiyovasküler hastalık (CVD), tip 2 diyabet ve metabolik sendrom ile ilişkilendirilmektedir (Pei ve ark. 2015). Organizmanın patojenlere karşı korunmasından sorumlu olan lökositler potansiyel olarak organizmaya giren çok sayıda toksik maddeye de maruz kalmaktadır. Kanda bulunan besin maddeleri, ilaçlar ve toksik bileşikler lökositlerin yapı ve fonksiyonunda değişikliklere yol açmaktadır (Yılmaz 2000).

Bu çalışmada; alkol verilen hayvanların lökosit sayısı ve yüzde oranlarında kontrol grubuna göre önemli bir değişiklik olmadığı, 2,4-D verilen hayvanlarda ise değerlerin önemli oranda yüksek olduğu bulundu. Hem alkol hem de 2,4-D verilen hayvanlarda ise lökosit sayılarının kontrol grubundaki hayvanların değerlerine yakın olduğu gözlemlendi. Çalışmada elde edilen bulgular, 2,4-D'ye maruz kalan insanlar (Figgs ve ark. 2000) ile herbisite maruz kalan balıklarda (Gholami-Seyedkolaei ve ark. 2013) kan lökosit düzeylerinin arttığı yönündeki bildirimle uyumluydu.

Figgs ve ark. (2000) yaptıkları çalışmada, 2,4 D'ye maruz kalan ve alkol tüketen insanlardaki lenfosit proliferasyon indeksinin, alkol kullanmayanlarınkinden önemli düzeyde düşük olduğunu gözlemlemişlerdir. Bu çalışmada alkol ve 2,4-D uygulaması yapılan hayvanlardaki lökosit sayısı ve tiplerinin, sadece 2,4-D verilen gruptakilerden önemli düzeyde düşük olması, Figgs ve ark. (2000)'nın gözlemlerini desteklemiştir. Çalışmada, 2,4-D uygulamasına bağlı olarak lökositlerin genel sayısının yanında, tüm tip sayılarında da artış olduğu gözlemlendi. Dokuda metabolize edilmeden ya da birikmeden vücuttan hızla temizlendiği ifade edilen (Saghir ve ark. 2013) 2,4-D'nin biyolojik fonksiyonu ile lökositler arasındaki bağlantı tam olarak bilinmemektedir. Bununla birlikte, toksik maddelerin kanda lökosit sayılarının artışına yol açtığı yönündeki bildirim (Yılmaz 2000) dikkate alındığında, bu çalışmada gözlenen lökosit sayısı ve tiplerindeki artışın 2,4-D'nin toksik özelliğine bir cevap olarak gerçekleştiği söylenebilir. 2,4-D'nin lökosit sayısında yol açtığı artışın altında yatan biyolojik mekanizmalar ile bu mekanizmaların hastalıklarla ilişkisi ve alkol kullanımının bu ilişkideki rolünü açıklayacak daha fazla araştırmaya ihtiyaç bulunmaktadır.

Çalışmada; alkol tüketiminin eritrosit sayısını azalttığı ve MCH düzeyini artırdığı bulundu. Anemi teşhisi için

kullanılan göstergelerden hematokrit ve hemogloblin düzeyleri ile eritrosit sayısındaki azalmanın; eritropoez inhibisyonu, hemosentez ve hemopoietik organlarda eritrosit yıkımının artmasından dolayı olabileceği düşünülebilir. Alkol alışkanlığı olanlarda, eritrositlerde hemoliz ve aneminin sık gözlemlendiği bildirilmektedir (Potter 1991). Temel ve ark. (2002) yaptıkları çalışmada, alkol tüketimi ile eritrosit katalaz aktivitesi arasında güçlü bir ilişkinin olduğunu ve alkol alımının eritrosit katalaz aktivitesini artırdığını bulmuşlardır. Bu bulgu, alkol tüketimine bağlı olarak eritrositlerde oksidatif stresin arttığını göstermektedir. Nitekim alkol kullanan insanlarda oksidatif stresin yol açtığı lipid peroksidasyon düzeylerinin yükseldiği bildirilmektedir (Armutçu ve ark., 2003). Bu çalışmada alkol verilen sıçanların kontrol grubundakilere göre eritrosit sayısındaki azalma; etanolün eritrositlere doğrudan toksik etkisi (Tyulina ve ark. 2002), serbest radikal üretiminin artması (Armutçu ve ark., 2003) veya eritrosit üretimi için gerekli olan folik asidin alkol kullanımından kaynaklanan noksanlığı (Salaspuro, 1986) nedeniyle olabilir. Çalışmada; alkol verilen sıçanlarda MCH düzeyinin önemli düzeyde artması, MCH'nin alkol alımı ile yüksek düzeyde korele olduğu yönündeki daha önceki bildirimleri (Shaper ve ark. 1985) desteklemektedir.

Herbisitlerin tipi, maruz kalma süresi ve herbisit formülasyonunda uygulanan yüzey aktif madde bileşiklerindeki farklılıklara bağlı olarak hayvanların eritrosit sayısında değişikliklere yol açabileceği ileri sürülmektedir (Gholami-Seyedkolaei ve ark. 2013). Nitekim, balıklarda yapılan çalışmalarda; herbisitlerin eritrosit sayısını, hematorit yüzde oranını ve hemogloblin miktarını azalttığı (Gluszczak ve ark. 2006) ya da tam tersi bu değerleri artırdığı (Modesto ve Martinez 2010) bildirilmektedir. Biyolojik membranlar, hücre ve çevresi arasında etkili bir bariyer olması nedeniyle hücreye sızan zehirli bileşiklerin üstesinden gelmesi gereken ilk savunma bölgesini oluşturmaktadır. Herbisitlerin hücre zarına dahil olarak yapı ve işlevini bozabilecekleri ileri sürülmektedir (Suwalsky ve ark.1996). Vücutta normal metabolik reaksiyonların yan ürünleri olarak reaktif oksijen türleri (ROS) oluşmakta ve pestisitlere maruz kalmak bunların oluşumunu hızlandırmaktadır (Nakbi ve ark. 2010). Nitekim, 2,4-D uygulanan sıçanlarda eritrosit antioksidan enzim aktivitelerinin azaldığı ve lipid peroksidasyon düzeylerinin arttığı gösterilmiştir (Nakbi ve ark. 2010). Bununla birlikte, hücresel membranda meydana gelen değişiklikler sadece lipidleri etkilemekle kalmaz aynı zamanda membran proteinlerini de etkileyebilir. Nitekim, Duchnowicz ve Koter (2002), herbisitlerin eritrosit membranında yol açtığı zararlara yönelik in vitro yaptıkları çalışmada; hemolizde bir artış gözlemlenmiş ve bunun herbisitlerin membran proteinlerine verdiği zarardan kaynaklandığını ileri sürmüşlerdir. Bu çalışmada; 2,4-D verilen sıçanlardaki eritrosit sayısı kontrol

grubundakilere göre önemsiz düzeyde düşük olduğu, ancak alkol ve 2,4-D'nin birlikte verildiği sıçanlarda ise diğer gruplardan önemli düzeyde daha düşük olduğu gözlemlendi. Bu durum hem alkol hem de 2,4-D uygulamasının serbest radikal üretimini artırarak eritrositlerin zar dayanıklılığını azaltması (Nakbi ve ark. 2010) ya da 2,4-D'nin eritrosit membran proteinlerine doğrudan etkisi (Duchnowicz ve Koter 2002) nedeniyle hemolize yol açmasından kaynaklanabileceği söylenebilir. Nitekim, daha önce yapılan bir çalışmada (Nakbi ve ark. 2010), eritrosit membranlarının yağ asidi bileşiminin 4 hafta boyunca 2,4-D maruz kalmasıyla değişebileceği bildirilmektedir.

Alkol tüketimi ile trombosit sayısı arasındaki ilişki hakkında bilgi oldukça sınırlıdır. Daha önce yapılan çalışmalarda; alkol kullanımının trombosit agregasyonunu kısıtladığı ve trombosit sayısının genellikle alkol kullanımına bağlı bozukluğu olan kişilerde azaldığı bildirilmektedir (Rubin ve Rand, 1994). Smith ve ark. (1992) kobaylara 4 hafta boyunca ad libitum etanol (%2,5) uygulaması yaptıkları araştırmada, trombosit sayısının %16 oranında azaldığını gözlemlenmişlerdir. Bu çalışmada, alkol ve 2,4-D uygulamasının her birisinin trombosit sayılarını azalttığı ve bu azalmayı birlikte kullanımlarının ise istatistiksel anlamda önemli olmayan ilave bir düşmeye götürdüğü bulundu. Bu bulgunun, alkol tüketimine bağlı kan trombosit düzeyinin düştüğü yönündeki bildirimlerle (Smith ve ark. 1992, Rubin ve Rand 1994) uyumlu olduğu gözlemlendi. Bununla birlikte, çalışmada; kandaki trombositlerin ortalama boyutu (MPW), trombosit dağılım genişliği (PDW) ve prokalsitonin (PCT) düzeyleri bakımından gruplar arasında önemli bir farklılığın olmadığı saptandı.

Sonuç olarak, çalışmada; 2,4-D'nin kanda lökosit sayısını artırdığı ancak eritrosit sayısını etkilemediği, alkol uygulamasının eritrosit sayısını düşürdüğü ve alkolle birlikte 2,4-D uygulamasının ise yalnız alkol uygulaması yapılan hayvanlardakilere göre; kanda eritrosit sayısı, hemogloblin miktarı ve hematokrit düzeyi ile trombosit sayısını daha fazla düşürdüğü gözlemlenmiştir. Bu bulgular, alkol kullanan kişilerin herbisite maruz kalmaları halinde, alkol kullanımına bağlı şekillenen hematolojik değişikliklerin daha da kötüye gidebileceğine ve oksijen taşıma kapasitelerinin olumsuz etkilenebileceğine işaret etmektedir.

## TEŞEKKÜR

- *4<sup>th</sup> International Agriculture Congress 05 - 08 July 2018 özet bildiri olarak sunulmuştur.*
- *Afyon Kocatepe Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından 13.03.2018 tarihli AKÜHADYEK-25-18 Referans no ile Onaylanmıştır.*

**Çıkar Çatışması:** Yazarlar, çıkar çatışması olmadığını beyan eder.

#### KAYNAKÇA

- Amel N, Wafa T, Samia D, Yousra B, Issam C, Cheraif I, Mohamed H. Extra virgin olive oil modulates brain docosahexaenoic acid level and oxidative damage caused by 2, 4-Dichlorophenoxyacetic acid in rats. *Journal of food science and technology*, 2016; 53: 1454-1464.
- Armutcu F, Gürel A, Kurtman S, Mungan AG, Ünalacak M. Alkol Alışkanlığı olanlarda lipid peroksidasyonu ve serum demir parametreleri. *Türk Klin. Biyok. Derg.* 2003; 2: 61-67.
- Bortolozzi AA, Evangelista de Duffard AM, Duffard RO and Antonelli MC. Effects of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid exposure on dopamine D2-like receptors in rat brain. *Neurotoxicology and Teratology*, 2004; 26: 599-605.
- Duchnowicz P, Koter M. Damage to the erythrocyte membrane caused by chlorophenoxyacetic herbicides. *Cell. Mol. Biol. Lett.* 2002; 7 (Supp): 180.
- Figgs LW, Holland NT, Rothman N, Zahm SH, Tarone RE, Hill R, Vogt RF, Smith MT, Boysen CD, Holmes FF, VanDyck K, Blair A. Increased lymphocyte replicative index following 2,4-dichlorophenoxyacetic acid herbicide exposure. *Cancer Causes Control*, 2000; 11: 373-380.
- Gholami-Seyedkolaei SJ, Mirvaghefi A, Farahmand H. & Kosari AA. Effect of a glyphosate-based herbicide in *Cyprinus carpio*: Assessment of acetylcholinesterase activity, hematological responses and serum biochemical parameters. *Ecotoxicology and environmental safety*, 2013; 98: 135-141.
- Gluszczak L, Miron DS, Crestani M, Fonseca MB, Pedron FA, Duarte MF, Vieira VLP. Effect of glyphosate herbicide on acetylcholinesterase activity and metabolic and hematological parameters in piava (*Leporinus obtusidens*). *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 2006; 65: 237-241.
- Hayes HM, Tarone RE, Cantor KP, Jessen CR, McCurnin DM and Richardson RC. Case Control Study of Canine Malignant Lymphoma: Positive Association With Dog Owner's Use of 2,4-Dichlorophenoxyacetic Acid Herbicides, The Nat. Cancer Institute. 1991; 83: 1226-1231.
- Hill RH, Head SL, Baker S, Gregg M, Shealy DB, Bailey SL, Williams CC, Sampson EJ, Needham LL. Pesticide residues in urine of adults living in the United States: reference range concentrations. *Environ. Res.* 1995; 7: 99-108.
- Ishizaka N, Ishizaka Y, Toda E, Hashimoto H, Nagai R, Yamakado M. Association between white blood cell count and carotid arteriosclerosis in Japanese smokers. *Atherosclerosis*. 2004; 175: 95-100.
- Kamoun Z, Kamoun AS, Bougatef A, Kharrat RM, Youssfi H, Boudawara T & Zeghal N. Hepatoprotective and nephroprotective effects of sardinelle (*Sardinella aurita*) protein hydrolysate against ethanol-induced oxidative stress in rats. *Environmental Science and Pollution Research*, 2017; 24: 1432-1441.
- Leonard C, Burke CM, O'Keane C and Doyle JS. Golf ball liver: Agent Orange Hepatitis, 1997; <http://gut.bmjournals.com/cgi/reprint/40/5/687>. (Erişim tarihi: 10.01.2018).
- Lerda D, Rizzi R. Study of reproductive function in persons occupationally exposed to 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D). *Mutat Res.*, 1991; 262: 47-50.
- Linge HM, Ochani K, Lin K, Lee JY, Miller EJ. Age-dependent alterations in the inflammatory response to pulmonary challenge. *Immunol. Res.*, 2015; 63: 209-215.
- Modesto KA, Martinez CB. Effects of roundup transorb on fish: hematology, antioxidant defenses and acetylcholinesterase activity. *Chemosphere*, 2010; 81: 781-787.
- Nakbi A, Tayeb W, Dabbou S, Issaoui M, Grissa AK, Attia N, Hammami M. Dietary olive oil effect on antioxidant status and fatty acid profile in the erythrocyte of 2,4-Dexposed rats. *Lipids in Health and Disease*, 2010; 9: 89-99.
- Pei C, Chang JB, Hsieh CH, Lin JD, Hsu CH, Pei D, Liang YJ, Chen YL. Using white blood cell counts to predict metabolic syndrome in the elderly: A combined cross-sectional and longitudinal study. *Eur. J. Intern. Med.*, 2015; 26: 324-329.
- Potter BJ. Alcohol and hepatic iron homeostasis. In: Watson RR. Editor. *Drug and alcohol abuse reviews: vol. 2. Liver Pathology and Alcohol*, Humana Press, Totowa: NJ, Pp; 1991; 1-60.
- Rubin R, Rand ML. Alcohol and platelet function. *Alcohol Clin. Exp. Res.*, 1994; 18: 105-110.
- Saghir SA, Marty MS, Zabloutny CL, Passage JK, Perala AW, Neal BH, Hammond L, Bus JS. Life-stage-, sex-, and dose-dependent dietary toxicokinetics and relationship to toxicity of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) in rats: implications for toxicity test dose selection, design, and interpretation. *Toxicol Sci*, 2013; 136: 294-307.
- Salaspuro M. Conventional and coming laboratory markers of alcoholism and heavy drinking. *Alcohol Clin Exp Res*, 1986; 10: 5- 12.

- Shaper AG, Pocock SJ, Ashby D, Walker M, Whitehead TP.** Biochemical and haematological response to alcohol intake. *Ann Clin Biochem*, 1985; 22: 50-61.
- Smith CM, Tobin JD Jr, Burris SM, White JG.** Alcohol consumption in the guinea pig is associated with reduced megakaryocyte deformability and platelet size. *J. Lab. Clin. Med.* 1992; 120: 699–706.
- Song Y.** Insight into the mode of action of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) as an herbicide. *J Integr Plant Biol*, 2014; 56(2): 106–113.
- Suwalsky M, Benites M, Villena F, Aguilar F, Sotomayor CP.** Interaction of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) with cell and model membranes. *Biochim. Biophys. Acta.* 1996; 1285: 267–276.
- Tan B, Babur E, Koşar B, Varol S, Dursun N, Süer C.** Age-dependent evaluation of long-term depression responses in hyperthyroid rats: Possible roles of oxidative intracellular redox status. *Brain research*, 2019; 1720: 146314.
- Taşlıdere E, Kuruş M, Kazancı A, Otlu A.** Sıçanlarda Özefagus ve Midede Yaşa Bağlı Değişimlerin Histomorfolojik Açıdan İncelenmesi. *Fırat Tıp Dergisi*, 2013; 18(2): 75-82.
- Tayeb W, Nakbi A, Chargui I, Cheraief I, Miled A, Hammami M.** Subacute effects of 2,4-dichlorophenoxyacetic herbicide on antioxidant defense system and lipid peroxidation in rat erythrocytes. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 2011; 99: 256–264.
- Teixeira MC, Duque P and Sa'Correia I.** Environmental genomics: mechanistic insights into toxicity of and resistance to the herbicide 2, 4-D. *Trends in Biotechnology.* 2007; 25: 363–370.
- Temel İ, Özerol E, Bay A, Çiğli A.** Erythrocyte catalase activities in alcohol consumption, medications and some diseases. *Inönü Üni. Tıp Fak. Derg.*, 2002; 9: 11-14.
- Tiryaki O, Canhilal R, Horuz S.** Tarım ilaçları kullanımı ve riskleri. *Erciyes Ün. Fen Bil.Derg.*, 2010; 26: 154-169.
- Tyulina OV, Prokopieva VD, Dodd RD, Hawkins JR, Clay SW, Wilson DO, Boldyrev AA, Johnson P.** In vitro effects of ethanol, acetaldehyde and fatty acid ethyl esters on human erythrocytes. *Alcohol Alcohol*, 2002; 37: 179-186.
- Tyulina OV, Huentelman MJ, Prokopieva VD, Boldyrev AA, Johnson P.** Does ethanol metabolism affect erythrocyte hemolysis? *Biochim. Biophys., Acta*, 2000; 1535: 69-77.
- Uyanıkgil Y, Ates, U, Baka M, Bicer S, Oztas, E, Ergen G.** Immunohistochemical and histopathological evaluation of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid-induced changes in rat kidney cortex. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 2009; 82(6): 749–755.
- Vural N.** Toksikoloji. *Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları*, 2005; 73: 381.
- Yılmaz B.** Fziyoloji, II.Basım, Feryal Matbaacılık, Ankara. 2000; 45-133.