

Assessment of DNA Damage and Oxidant/Antioxidant Balance After Acute Exposure to Glyphosate Isopropylamine in Rats

Ruhi TÜRKMEN¹, Yavuz Osman BİRDANE¹, Orkun ATİK^{1*}

¹Department of Pharmacology and Toxicology, Faculty of Veterinary Medicine, Afyon Kocatepe University, Afyonkarahisar, Türkiye

ABSTRACT

In this study, the effects of oral administration of glyphosate isopropylamine (GI) salt at different doses (1/10 and 1/2 of LD50) on DNA damage, oxidant/antioxidant balance and some biochemical parameters were investigated to evaluate the acute toxicity of glyphosate isopropylamine salt. The results showed that 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OHdG) levels were significantly increased, malondialdehyde (MDA) levels were increased in all tissues except blood and heart and glutathione (GSH) levels were decreased in rats in the high dose group. In addition, significant increases in catalase (CAT) and superoxide dismutase (SOD) enzyme activities were detected. Biochemical analyses demonstrated that acute exposure to herbicides led to a significant elevation in serum alkaline phosphatase (ALP), albumin and urea levels, but no significant changes in AST, ALT, GGT, total protein (Tp), creatinine and CK-MB levels. These findings suggest that exposure to high doses of glyphosate may cause toxic effects by triggering oxidative stress and DNA damage.

Keywords: Acute exposure, Glyphosate isopropylamine, Rats

Sıçanlarda Glifosat İzopropilamin Akut Maruziyeti Sonrası DNA hasarı ve Oksidan/Antioksidan Denge Değerlendirmesi

ÖZ

Bu çalışmada, glifosat izopropilamin (GI) tuzunun akut toksisitesini değerlendirmek amacıyla sıçanlara farklı dozlarda (LD50'nin 1/10 ve 1/2'si) oral olarak uygulanmasının, DNA hasarı, oksidan/antioksidan denge ve bazı biyokimyasal parametreler üzerindeki etkileri incelenmiştir. Sonuçlar, yüksek doz grubundaki sıçanlarda 8-hidroksi-2'-deoksiguanozin (8-OHdG) seviyelerinin belirgin şekilde arttığını, malondialdehit (MDA) düzeylerinin kan ve kalp dışındaki tüm dokularda yükseldiğini ve glutatyon (GSH) seviyelerinin ise azaldığını göstermiştir. Ayrıca, katalaz (CAT) ve süperoksit dismutaz (SOD) enzim aktivitelerinde anlamlı artışlar tespit edilmiştir. Biyokimyasal analizler, herbisite akut maruziyetin serum alkale fosfataz (ALP), albümin ve üre seviyelerinde artışa yol açtığını ancak AST, ALT, GGT, total protein (Tp), kreatinin ve CK-MB seviyelerinde belirgin bir değişiklik oluşturmadığını ortaya koymuştur. Bu bulgular, yüksek dozda glifosata maruziyetin oksidatif stres ve DNA hasarını tetikleyerek toksik etkilere neden olabileceğini göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Akut maruziyet, Glifosat izopropilamin, Sıçan

To cite this article: Türkmen R, Birdane Y.O, Atik O. Assessment of DNA Damage and Oxidant/Antioxidant Balance After Acute Exposure to Glyphosate Isopropylamine in Rats. (2025):18(2):144-152

Submission: 19.03.2025 Accepted: 04.06.2025 Published Online: 05.06.2025

ORCID ID: RT: 0000-0003-4726-3900, YOB: 0000-0003-0754-7909, OA: 0000-0003-2411-7492

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

GİRİŞ

Dünya nüfusunun hızla artması ve ekilebilir arazilerin daralması, gıda ihtiyacını daha da kritik hale getirmiştir. Bu durum, ekili bitkiler ve gıda ile yem depolarındaki kayıpları önlemek amacıyla pestisitler de dahil olmak üzere çeşitli kimyasalların kullanılmasına neden olmuştur. Ancak bu kimyasalların gelişigüzel kullanımı, hedef dışı organizmalara zarar vererek ve çevrede büyük değişikliklere neden olarak biyoçeşitliliği ciddi şekilde etkileyebilmektedir (Dar ve ark. 2019). Bu amaçla kullanılan pestisit miktarı Tarım ve Orman Bakanlığı'nın en son verilerine göre (2025a), 2006'da 45376 ton iken 2023'de 57766 ton; bu grubun içinde yer alan herbisitlerin oranı da 2006'da 6956 ton iken 2023 yılı için yaklaşık 16 bin ton olmuştur. Tarım ilacı kullanım miktarları gruplar bazında incelendiğinde fungusitlerin ardından 2. sırada herbisitler gelmektedir. Ayrıca, aktif madde düzeyinde Türkiye'de en yaygın kullanılan herbisitlerin başında glifosat izopropilamin (GI) tuzu yer almaktadır. Yapılan tespitlere göre, aktif durumda olan ruhsatlı ilaç sayısı 2702'dir (Tarım ve Orman Bakanlığı, 2025b).

Genellikle izopropilamin tuzu olarak formüle edilen glifosat, bir organofosfat (OF) bileşiği olup, geniş yapraklı yabancı otları ve odunsu bitkileri hedef alan geniş spektrumlu sistemik bir herbisit veya yabancı ot kurutucudur (Bou-Mitri ve ark. 2025). Tarım sektörü, 1970'lerden bu yana sağlıklı florayı öldürmeden zararlı yabancı otları öldürmek için ağırlıklı olarak GI kullanmaktadır. Ayrıca, ev çimleri, bahçeler, parklar, golf sahaları ve yüzme havuzlarının rekreasyonu için artan talep, dünya çapında sıklık ve hacim olarak yüz kat daha fazla tüketimle sonuçlanmakta ve orantılı olarak daha fazla artış beklenmektedir. Yaygın kullanım ve kolay erişim kaçınılmaz olarak çevre kirliliğine ve büyük miktarda zehirlenmeye yol açmaktadır. Her yıl acil servise başvuran zehirlenmelerin en yaygın nedenidir. GI zehirlenmesi mağdurları, ölümcül bir sonuçtan veya yüz binlerce morbidite ve mortaliteden kaçınmak için hastanenin acil servisinde acil tedavi gerektirir (Basarslan ve Basarslan, 2023).

Glifosat tuzu herbisit içeren formülasyonu ile ilişkili ölümler ve kardiyovasküler yan etkilerin araştırıldığı bir çalışmada, GI grubunda amonyum grubuna göre daha fazla ölüm, daha yüksek QTc uzaması insidansı ve daha yüksek PR uzaması eğilimi görüldüğü rapor edilmiştir (Moon ve ark. 2018). Her ne kadar bitki ve memeli metabolizmasındaki önemli farklılıklar nedeniyle GI, insanlar için minimal toksik olarak kabul edilse de (Williams ve ark. 2000), giderek artan kanıtlar, toksisitesinin insanlarda önemsiz olmayabileceğini göstermektedir (Picetti ve ark. 2017; Kunapareddy ve Kalisetty, 2021). Bu durum, GI kaynaklı memeli toksisitesinde, bitkilerdeki etki mekanizmasından bağımsız olarak oksidatif stres ve DNA hasarı gibi farklı yolların rol oynayabileceğini göstermektedir (Zanchi ve ark. 2024).

Serbest radikallerin biyolojik sistemlerde çeşitli faktörler nedeniyle birikmesinin yanı sıra, endojen antioksidanların bu radikalleri etkisizleştirme kapasitesindeki dengenin bozulması, oksidatif stres olarak tanımlanmaktadır (Halliwell ve Gutteridge, 2015). Oksidatif stresin ana ürünlerinden olan reaktif oksijen türleri (ROS), yüksek reaktiviteye sahip moleküller olup, mitokondri başta olmak üzere hücre organellerinde normal metabolik süreçlerin yanı sıra iskemi-reperfüzyon, yaşlanma, radyasyon, yüksek oksijen basıncı, inflamasyon ve pestisitler gibi ksenobiyotiklere maruz kalma gibi durumlar sonucunda üretilebilirler (Sies ve Jones, 2020). DNA hasarı genellikle öncelikle baz eksizyon onarım yolu ile onarılır ve oksitlenmiş ürünler idrarla atılır. 8-hidroksi-2-deoksiguanozin (8-OHdG) en yaygın olarak çalışılan oksitlenmiş metabolitlerden biridir ve DNA'nın oksidatif hasarı için bir biyobelirteç olarak kabul edilir (Graille ve ark. 2020). Son zamanlarda yapılan bazı çalışmalar, özellikle ROS ile ilgili olarak, pestisit patogenezinde hücre antioksidan kapasitesinin yetersizliğinin potansiyel etkilerine ve DNA hasarına dikkat çekmiştir (Alvarez-Moya ve ark. 2011; Turkmen ve ark. 2019a; Turkmen ve ark. 2019b; Basarslan ve Basarslan 2023; Smith-Roe ve ark. 2023). Örneğin, Turkmen ve ark. (2019a; 2019b), 375 mg/kg GI ile oral yoldan uygulanan Wistar sıçanlarının, serbest radikal aracılı lipid peroksidasyon (LPO) kaskadının stabil bir metaboliti ve oksidatif stresin bilinen bir belirteci olan malondialdehit (MDA) seviyelerinde artış gösterdiğini bildirmişlerdir. Benzer şekilde, tiyol grupları oksidatif hasara karşı hassastır ve bu tür bir hasar meydana geldiğinde, bu gruplar serbest radikalleri temizleyebilir. Glutatyon (GSH), bu tiyol gruplarından birini oluşturur ve serbest radikallerin temizlenmesi, elektrofilik bileşiklerin detoksifikasyonu ve hücresel redoks durumunun modüle edilmesinde vücudun doğal savunma sisteminin önemli bir bileşenidir. Bu nedenle GI tarafından indüklenen oksidatif stresin şiddeti bu tiyol grupların ölçülmesiyle belirlenebilir. Ayrıca, GI ile ilişkili oksidatif stres, organizmayı toksisitenin etkilerine karşı savunmada görevli süperoksit dismutaz (SOD) ve katalaz (CAT) gibi antioksidan enzimlerin aktivitesini yavaşlatabilir. Bu hücre içi antioksidan enzim aktivitelerinin ölçülmesi de GI ile ilişkili oksidatif hasarın şiddetini ortaya koyabilir. Chen ve ark. 2022).

GI'nın vital organlarda oksidatif stresi ve DNA hasarını indüklediği birçok çalışmada doğrulanmıştır (Mazuryk ve ark. 2024a; Mazuryk ve ark. 2024b). Ancak bu çalışmalarda kullanılan ticari ürünler ve dozlar, bizim çalışmamızdakilerden farklılık göstermektedir. Bu çalışmada kullanılan %48 oranında glifosat ve sülfektan içeren Knockdown® SL, GI tuzunun bir ticari formudur ve dünyada olduğu gibi Türkiye'de de yaygın olarak kullanılmaktadır. Daha önceki bir çalışmamızda bu

kimyasalın öldürücü dozunun (LD₅₀) 7878,5 mg/kg olduğu belirlenmişti (Turkmen ve Dogan 2020). GI'nın yüksek (LD₅₀/2) ve düşük (LD₅₀/10) dozlarının akut maruziyetine bağlı toksik potansiyeli hakkında çalışma bulunmamaktadır. Özellikle doku oksidatif stresinin boyutuyla ilgili veriler eksiktir. Bu bilgiler ışığında çalışmanın amacı, GI tuzunun yüksek (LD₅₀/2) ve düşük (LD₅₀/10) iki oral dozunun akut maruziyet sonrası sıçan kan, beyin, kalp, karaciğer, böbrek ve testis dokularında oksidan/antioksidan denge, DNA hasarı ve bazı biyokimyasal parametreler üzerindeki etkisini araştırmaktır.

MATERYAL ve METOT

Kimyasal

GI (Knockdown 48 SL), HEKTAŞ (Kocaeli, Türkiye) şirketinden satın alındı. Hayvanlara verilen GI dozu Turkmen ve Dogan (2020) tarafından yapılan çalışmada dikkate alınarak belirlendi.

Hayvan Materyali

Hayvan materyali olarak, onsekiz adet yetişkin (180-200 g ağırlığında ve 2,5-3 aylık) erkek Wistar albino sıçan, Afyon Kocatepe Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma ve Uygulama Merkezi'nden temin edildi. Bir haftalık adaptasyonun ardından, üç gruba randomize edilen hayvanlar (n = 6), kontrollü bir ortamda (22 °C, 12 saat aydınlık-karanlık döngüsü) serbest yiyecek ve su ile muhafaza edildi. Çalışmaya, Afyon Kocatepe Üniversite Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından izin verildi (AKUHADYEK, Ref No: 94/19, Tarih: 09/2019).

Deneysel Uygulamalar

1. Grup: Kontrol; oral gavaj ile distile su verildi.
2. Grup: Doz 1 (D1); oral gavaj ile GI'nın LD₅₀/2 dozu (tek uygulama) verildi.
3. Grup: Doz 2 (D2); oral gavaj ile GI'nın LD₅₀/10 dozu (tek uygulama) verildi.

Örneklerin Toplanması ve Analizi

İlaç uygulamasından 24 saat sonra ketamin/ksilazin anestezisi altında sıçanların göğüs boşluğu açılarak kardiyak punksiyon ile heparinli ve normal tüplere kan alındı. Anestezi altındaki sıçanlar eksanguinasyon ile sakrifiye edildi. Heparinli tüplere alınan kanların 1 ml'si MDA ve GSH analizleri için ayrıldı ve aynı gün çalışıldı. Geri kalan kanlardan eritrositlerin hazırlanması Winterbourn ve ark. (1975) yöntemine göre gerçekleştirildi ve SOD ile CAT analizleri eritrosit lizatında çalışıldı. Normal tüpe alınan kandan serum ayrıldı. Daha sonra, karaciğer, böbrek, kalp, beyin ve testis dokularının bir kısmı, biyokimyasal analizler için 0.15 M Tris-HCl tamponunda (pH 7.4) homojenize edildi. Homojenizasyon işleminden sonra dokular 4°C'de 2500 g'de 10 dk santrifüj edildi ve elde edilen süpernatantlar analiz yapılmaya kadar 20°C'de saklandı.

Tam kan ve doku homojenatlarının MDA (Draper ve Hardley 1990; Ohkawa vd. 1979) ve GSH (Beutler vd. 1963) düzeyleri spektrofotometrik yöntemlerle belirlendi. Ayrıca, eritrosit lizatı ve doku homojenatının SOD (Sun et al. 1988) ve CAT (Luck 1955; Aebi 1974) aktiviteleri spektrofotometrik olarak ölçüldü. Hemogloblin ve dokuların protein içerikleri sırasıyla Drabkin ve Austin (1935) ve Lowry ve arkadaşlarının (1951) yöntemlerine göre analiz edildi.

Serum 8-OHdG Düzeylerinin Belirlenmesi

DNA oksidasyon belirteci olarak 8-hidroksi-2'-deoksiguanozin (8-OHdG) seviyelerinin ölçümü, ELABSCIENCE Şirketinin ELISA (Katalog numarası: E-EL-0028) kiti kullanılarak belirlendi.

Serum Biyokimyasal Parametrelerinin Analizi

Serumdan aspartat aminotransferaz (AST), alkalen fosfataz (ALP), alanin aminotransferaz (ALT), gama glutamin transferaz (GGT), albümin, total protein (Tp), üre, kreatinin ve kreatin kinaz (CK-MB) ölçümü otoanalizör cihazı yardımıyla yapıldı. Bu belirteçlerin serum düzeyleri Abbott Architect c8000 cihazında Abbott kitleri kullanılarak belirlendi.

İstatistiksel Analiz

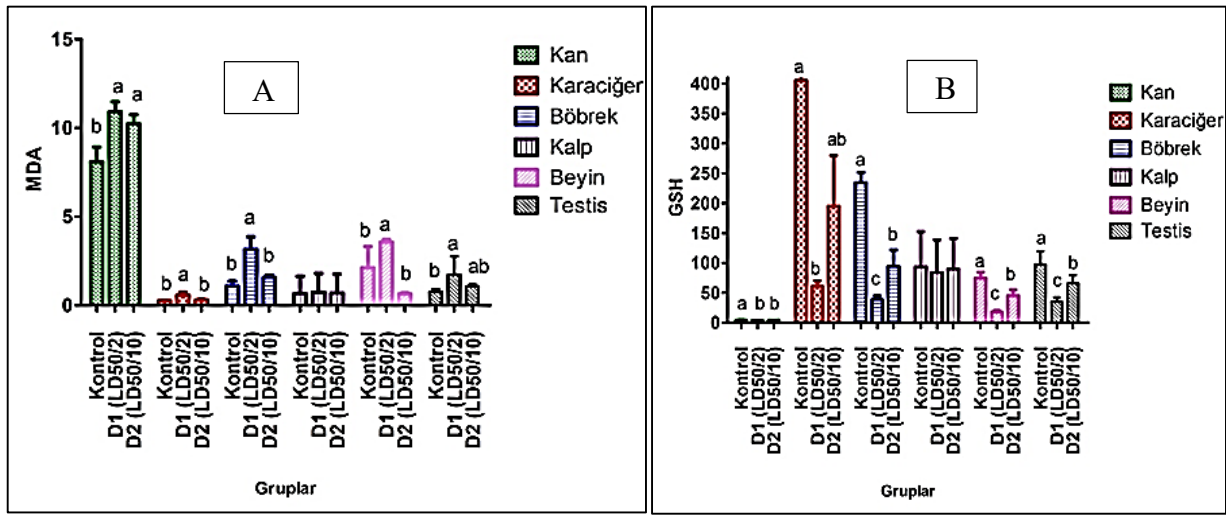
Sonuçlar, ortalama $\pm$ ortalamanın standart hatası (SEM) olarak ifade edildi. Verilerin normalliği ve homojenliği sırasıyla Kolmogorov-Smirnov ve Levene testleri kullanılarak kontrol edildi. Normal dağılım gösteren veri setleri için tek yönlü varyans analizi (ANOVA) uygulandı ve gruplar arası farklılıklar Duncan'ın post hoc testi kullanılarak belirlendi. Analizlerde anlamlılık düzeyi $p < 0.05$ olarak belirlenmiştir. Tüm veriler Windows için Prism 5 (sürüm 5.03) istatistiksel yazılım paketi (GraphPad Software Inc., La Jolla, CA, ABD) kullanılarak analiz edilmiştir.

BULGULAR

Akut GI'fosat izopropilamin (GI) Maruziyetinin MDA ve GSH Düzeylerine Etkisi

Sonuçlar, Şekil 1A (MDA) ve Şekil 1B (GSH)'de gösterildi. MDA düzeyleri bakımından gruplar incelendiğinde, kontrol grubuna göre kalp dışındaki tüm organlarda ve kanda özellikle yüksek doz herbisit uygulanan hayvanlarda MDA düzeyleri daha yüksekti ($p < 0,05$).

GSH seviyeleri bakımından gruplar incelendiğinde ise kontrol grubuna kıyasla kalp dışındaki tüm organlarda özellikle yüksek doz herbisit uygulanan hayvanlarda GSH seviyeleri oldukça düşüktü ($p < 0.05$).



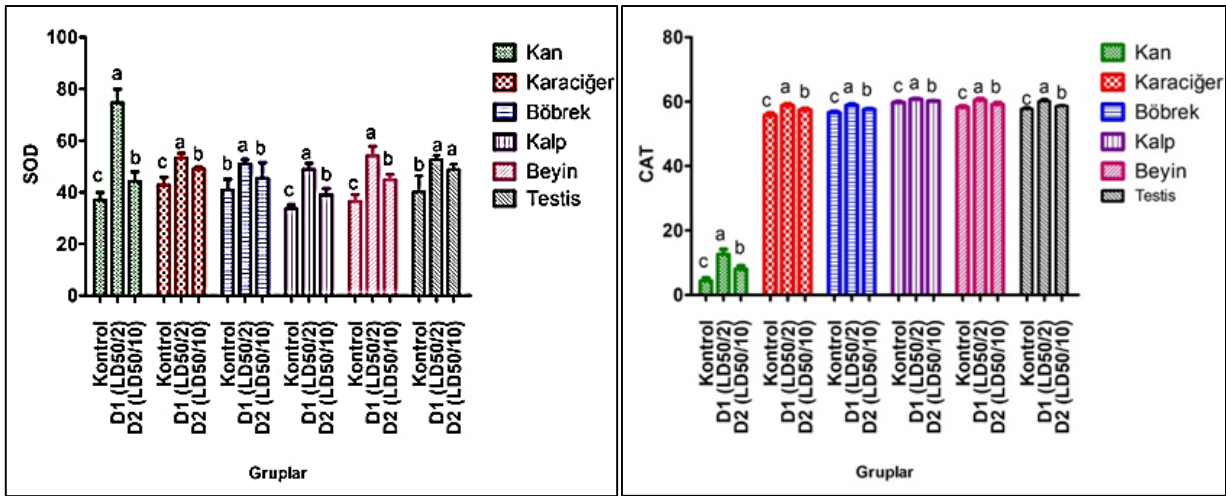
Şekil 1: Glifosat izopropilaminin farklı dozlarına (D1, LD50/2 ve D2, LD50/10) oral yoldan maruz bırakılan sıçanların farklı organlarındaki MDA (A) ve GSH (B) seviyelerinin bar grafikleri. Grafikte farklı harflerle gösterilen değerler istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0,05$).

Figure 1: Bar graphics of the MDA (A) and GSH (B) levels in different organs of rats exposed orally to different doses (D1, LD50/2 ve D2, LD50/10) of glyphosate isopropylamine. The values shown with different letters in the graph are statistically significant ($p<0,05$).

Akut Glifosat izopropilamin (GI) Maruziyetinin SOD ve CAT Aktivitelerine Etkisi

Sonuçlar, Şekil 2A (SOD) ve Şekil 2B (CAT)’de gösterildi. Kontrol ile karşılaştırıldığında hem eritrositlerde hem de tüm organlarda, özellikle de

yüksek herbisit dozlarına maruz kalan hayvanlarda, SOD ve CAT gibi antioksidan enzimlerin aktivitelerinde önemli artışlar olduğu görüldü ($p<0,05$).



Şekil 2: Glifosat izopropilaminin farklı dozlarına (D1, LD50/2 ve D2, LD50/10) oral yoldan maruz bırakılan sıçanların farklı organlarındaki SOD (A) ve CAT (B) aktivitelerinin bar grafikleri. Grafikte farklı harflerle gösterilen değerler istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0,05$).

Figure 2: Bar graphics of the SOD (A) and CAT (B) activities in different organs of rats exposed orally to different doses (D1, LD50/2 ve D2, LD50/10) of glyphosate isopropylamine. The values shown with different letters in the graph are statistically significant ($p<0,05$).

Akut Glifosat İzopropilamin (GI) Maruziyetinin Bazı Biyokimyasal Parametrelere Etkisi

Karaciğer fonksiyon parametreleri AST, ALT, ALP, GGT, T_p ve albümin; böbrek fonksiyon parametreleri üre, kreatinin aktiviteleri ve kalp biyomarkırı CK-MB düzeyleri üzerine akut GI maruziyet sonuçları Tablo 1.’de sunuldu. Kontrol grubuna göre

karşılaştırıldığında, herbisite akut maruz kalmanın serum ALP, albumin ve üre seviyelerinde önemli bir artışa neden olduğu görüldü ($p<0,05$). Bununla birlikte gruplar arasında serum total protein, AST, ALT, GGT, kreatinin ve CK-MB seviyelerinde istatistiksel anlamda önemli bir değişiklik olmadı ($p>0,05$).

Tablo 1. Akut glifosat izopropilamin (GI) maruziyetinin bazı biyokimyasal parametrelere etkisi
Table 1. Effects of acute glyphosate isopropylamine (GI) exposure on some biochemical parameters

Gruplar ve Parametreler	Kontrol	D1 (LD50/2)	D2 (LD50/10)	P değeri
Tp (g/dL)	5,18±0,27	5,62±0,54	5,34±0,23	0,164
AST (U/L)	158,00±15,22	159,67±32,76	174,33±41,16	0,625
ALT (U/L)	63,83±14,62	84,50±11,48	68,67±15,64	0,054
ALP (U/L)	376,67±126,74 ^c	579,67±84,97 ^a	411±84,08 ^b	0,007
GGT (U/L)	5,33±4,46	2,83±4,12	2,33±2,58	0,368
Albümin (g/dL)	3,08±0,13 ^b	3,33±0,11 ^a	3,16±0,20 ^a	0,035
Üre (mg/dL)	42,60±5,35 ^b	51,43±6,31 ^a	53,53±5,66 ^a	0,012
Kreatinin (mg/dL)	0,44 ± 0,06	0,46±0,12	0,40±0,08	0,463
CK-MB (IU/L)	654,83±223,31	756,33±175,21	614,83±242,93	0,519

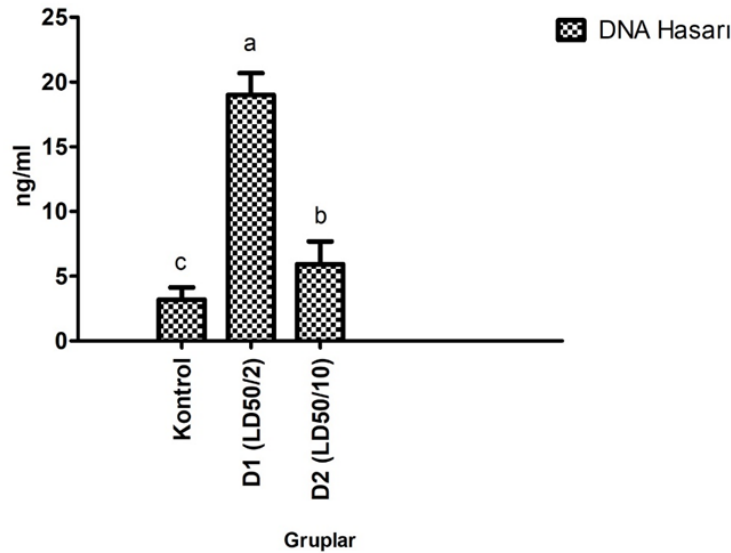
Mean ± SEM; n=6

a,b,c: Aynı satırda farklı harflerle gösterilen değerler istatistiksel olarak anlamlıdır (p<0,05).

Akut Glifosat İzopropilamin (GI) Maruziyetinin DNA Hasarına Etkisi

Sonuçlar, Şekil 3.'de gösterildi. 8-OHdG düzeyleri bakımından gruplar incelendiğinde, kontrol grubuna

göre herbisitinin her iki dozuna da maruz kalan hayvanlarda 8-OHdG düzeyleri anlamlı derecede yüksekti (p<0,05).



Şekil 3: Glifosat izopropilaminin farklı dozlarına (D1, LD50/2 ve D2, LD50/10) oral yoldan maruz bırakılan sıçanların serum 8-OHdG düzeylerinin bar grafikleri. Grafikte farklı harflerle gösterilen değerler istatistiksel olarak anlamlıdır (p<0,05).

Figure 3: Bar graphics of the 8-OHdG levels in serum of rats exposed orally to different doses (D1, LD50/2 ve D2, LD50/10) of glyphosate isopropylamine. The values shown with different letters in the graph are statistically significant (p<0.05).

TARTIŞMA

Bu çalışma, akut GI maruziyetine bağlı oksidatif stres ve DNA hasarının boyutunu biyokimyasal, oksidan-antioksidan ve 8-OHdG analizleriyle ortaya koymuştur.

Aerobik yaşam ve enerji metabolizması süreçleri nedeniyle, canlı organizmalar belirli bir düzeyde oksidatif hasara maruz kalmaktadır. Oksidatif stresin derecesi, serbest radikaller ve reaktif oksijen ile azot türlerinin üretim hızına ve organizmanın sahip olduğu antioksidan savunma mekanizmalarının etkinliğine bağlıdır (Bayezit ve Kart 2021). Bazı biyokimyasal parametrelerde gözlenen değişiklikler, sıçanların GI'ya maruz kalmasının kan ve farklı dokularda (karaciğer, böbrek, beyin, testis) LPO'yu önemli ölçüde artırdığını ve böylece LPO'nun akut OF kaynaklı toksisitede yer alan moleküler mekanizmalardan biri olabileceği hipotezini desteklediğini göstermektedir (Sule ve ark. 2022). Antioksidan sisteminin bozulması, hücre zarında hasara, zarın akışkanlık ve geçirgenliğinde değişikliklere yol açabilir; bu durum ise oksidatif stresin ortaya çıkmasına ve örneğin DNA hasarına sebep olabilir (Hernández-Moreno ve ark. 2018).

LPO'nun bir ürünü ve belirteci olan MDA, oldukça reaktif bir metabolittir (Khan ve Rampal 2014). Bu nedenle, artan LPO seviyeleri, süperoksit, hidrojen peroksit ve hidroksil radikallerinin birikmesine yol açar ve bu da LPO'nun daha da kötüleşmesine neden olur (Noeman ve ark. 2011). Aşırı serbest radikal oluşumunu kompanze edebilmek için antioksidan enzimlerin aktivitesinde meydana gelen artış, bizim bulgularımızla uyumlu bir şekilde, hücresel savunma mekanizmalarının güçlendiğini göstermektedir. Önceki araştırmalarda, GI uygulamasının insan, sıçan ve farelerde MDA seviyelerini artırdığı tespit edilmiştir. (Pieniążek ve ark. 2004; Astiz ve ark., 2009; Cavuşoğlu ve ark., 2011). Bu çalışmada da, kalp dokusu hariç diğer tüm dokularda MDA seviyelerinin arttığı, en yüksek MDA seviyelerinin ise kanda gözlemlendiği tespit edilmiştir. Bu durum, akut maruziyet sonucunda kana salınan yüksek miktardaki serbest radikallerden kaynaklanıyor olabilir.

Oksidasyon kaynaklı hasarı önlemek için organizmaların etkili antioksidan sistemlere sahip olması gerekir. Bu sistemlerin bazı bileşenleri, indirgenmiş glutatyon (GSH) ve glutatyon peroksidaz veya katalaz gibi serbest radikal temizleyici enzimlerin yanı sıra GSH geri dönüşümünde önemli bir role sahip olan glutatyon redüktaz (GR) gibi enzimler de dahil olmak üzere bazı antioksidan enzimleri içerir. GSH, hücre içindeki antioksidan savunma sisteminin bir bileşeni olup, diazinon veya atrazin gibi çeşitli ksenobiyotiklere maruz kalmanın ileriye dönük biyolojik göstergesi olarak kullanılabilir (De La Casa-Resino ve ark. 2013; Hernández-Moreno ve ark. 2018). Aynı zamanda hücre içi redoks tampon sisteminin ana bileşenidir. Pestisitler gibi ksenobiyotikler ile reaksiyona girerek kompleks

formlar oluştururlar. GSH, bu şekilde hücreleri ksenobiyotiklerin toksik etkilerinden korur (Chhabra ve ark. 1993). Oksidatif stres durumlarında artmış LPO bağlı olarak meydana gelen peroksitlerin detoksifikasyonunda görev alan enzimler tarafından GSH tüketilir (Cathcart 1985). Bu çalışmada kalp dokusu hariç diğer tüm dokularda GSH seviyelerinin azaldığı gözlemlendi. Bu durum GSH'nun GI uygulanması sonucu ortaya çıkan serbest radikaller ve peroksitlerle reaksiyona girerek düzeyinin azalabileceği şeklinde yorumlanmaktadır.

Normal fizyolojik şartlarda hem SOD hem de CAT gibi hücre içi antioksidan enzimler serbest radikalleri ortadan kaldırarak hücrelerin antioksidan savunma sisteminde bütünüleyici bir rol oynarlar (Bukowska, 2004). SOD, süperoksit radikalleri H_2O_2 'e dönüşümünü katalize ederken, CAT H_2O_2 'i suya dönüştürür. Bu antioksidan enzimler bu yüzden serbest radikallerin toksik etkilerini azaltabilir (Mansour ve Mossa, 2009). Farklı pestisitlerle yapılan çalışmalarda pestisitlerin SOD ve CAT gibi antioksidan enzimlerin aktivitelerine etkisi konusunda çelişkili ifadeler bulunmaktadır. Kanbur ve ark. (2009) yaptıkları çalışmada organik fosforlu bir pestisid olan propetamfosun rat eritrosit SOD ve CAT aktivitelerini azalttığını bildirmişlerdir. Ince ve ark. (2017) ise malatyon tarafından oluşturulan oksidatif hasar neticesinde rat eritrosit ve dokularında SOD ve CAT aktivitelerinin arttığını rapor etmişlerdir. Bizim çalışmamızda da akut GI'ya maruz bırakılan ratlarda, eritrosit, karaciğer, kalp, böbrek, beyin ve testis dokularında SOD ve CAT aktivitelerinin azaldığı görüldü. GI grubunda SOD ve CAT aktivitelerinin düşük bulunması oksidatif stresin artışına bağlı olarak bu enzimlerin tükenmesi ile ilişkili olabilir.

Karaciğer, bir hayvanın vücudunda hayati ve dirençli bir organdır ve temel işlevleri metabolizmayı, sindirimi, detoksifikasyonu, vitaminleri, mineralleri ve bağışıklığı depolamaktır. Ancak bu organ gıda takviyeleri, ilaçlar, kimyasallar ve şifalı bitkilerden kaynaklanan toksinlerden etkilenebilir (Thompson ve ark. 2017). Ayrıca glifosat içeren herbisitlerin bir çok çalışmada nefrotoksisiteye neden oldukları öne sürülmektedir (Wunnapuk ve ark. 2014; Gao ve ark. 2019; Trasande ve ark. 2020). Ek olarak GI'nın yutulması veya kendi kendini zehirleme durumunda, sistemik glifosat konsantrasyonunun yüksek olması beklenir. Kasıtlı veya kazara oral alımdan sonra akut kendi kendine zehirlenme ölümcül olabilir ve en ciddi şekilde zehirlenen hastalar akut solunum sıkıntısı, nörolojik ve şiddetli gastrointestinal semptomlar gibi diğer organ komplikasyonlarının eşlik ettiği akut böbrek yetmezliğinden ölür ve kusma ve ishal nedeniyle aşırı sıvı kaybı hipovolemik şokla sonuçlanır (Roberts ve ark. 2010). Karaciğer, böbrek ve kalp fonksiyon testlerini değerlendirmek için, karaciğer için AST, ALT, ALP, GGT, T_p, ve albümin; böbrek için üre, kreatinin ve kalp için CK-MB gibi bazı önemli

belirteçler gruplar arasında değerlendirilmiştir. Bu testlerde, GI kaynaklı hepato-nefrotoksitenin karaciğer ve böbrek enzimlerinin dolaşıma sızmasına ve serum enzim seviyelerinin yükselmesine neden olduğunu göstermiştir. Yukarıda belirtilen biyobelirteçlerin serumdaki artışına ilişkin bulgularımız, glifosat bazlı herbisitinin akut ve kronik uygulanarak önemli serum enzimlerinin artışını gösteren diğer çalışmalarla (Jasper ve ark. 2012; Fadel ve ark. 2022) uyumludur.

Bildiğimiz kadarıyla, mesleki glifosat maruziyetini, ROS'a yanıt olarak oluşan ve pro-mutajenik bir DNA lezyonu olan 8-OHdG ile ilişkilendiren yalnızca bir çalışma bulunmaktadır (Koureas ve ark. 2014). Yunanistan'daki bir tarım topluluğunda 80 pestisit püskürtücüsü arasında, son ilaçlama sezonunda en az bir kez glifosat uygulayanların tam kanda yüksek 8-OHdG düzeylerine (>%75) sahip olma olasılığı, uygulamayanlara göre 1,5 kat daha fazladır; ancak bu ilişki tek değişkenli analize dayanmaktadır ve istatistiksel olarak anlamlı değildir (Koureas ve ark. 2014). EPA veya IARC tarafından değerlendirilen in vivo çalışmaların çoğu, GBH maruziyetini takiben tavşanlarda ve farelerde gösterilen mikronükleus indüksiyonu, kromozomal sapma ve DNA hasarının diğer yönlerini analiz etmiştir (Helal ve Moussa 2005; Amer ve ark. 2006; Benbrook 2019). Bu çalışmada, GI'nın düşük ve yüksek dozlarına akut maruziyet sonucu, oksidatif DNA hasarının biyobelirteci olan 8-OHdG seviyelerinin arttığı gözlemlenmiştir.

Sonuç olarak, GI'ya özellikle yüksek dozlarda maruz kalan sıçanlarda toksik etkiler olabileceği gösterilmiştir. Bununla birlikte glifosat formülasyonlarının şeffaf olmaması, kullanımının sağlık üzerindeki etkilerini anlamada zorluklara neden olmakta ve küresel verilerdeki boşluklarla birlikte düşünüldüğünde, bu kimyasalın hayvanlar ve insan popülasyonları üzerindeki çalışmalarını tutarsız hale getirmektedir. Bu nedenle, glifosat ve/veya glifosat bazlı herbisitlerin çevremiz ve sağlığımız üzerindeki gerçek etkilerini anlamaya devam etmek için daha fazla araştırmaya ihtiyaç vardır.

Çıkar çatışması: Yazarların bildirecekleri herhangi bir çıkar çatışması bulunmamaktadır.

Yazarların Katkıları: RT, YOB ve OA proje fikrine, çalışmanın tasarımına ve yürütülmesine katkıda bulunmuştur. RT ve OA veri toplama sürecine katkıda bulunmuştur. RT ve OA verileri analiz etmiştir. RT makale taslağını hazırlamış ve yazmıştır. RT, YOB ve OA makaleyi eleştirel bir gözle gözden geçirmiştir. Makalenin son hali tüm yazarlar tarafından okunmuş ve onaylanmıştır.

Etik onay: Bu çalışma Afyon Kocatepe Üniversitesi Araştırma Hayvanları Uygulama Merkezi'nde gerçekleştirilmiştir. Bu araştırma Afyon Kocatepe Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu

tarafından onaylanmıştır (AKUHADYK, Ref No: 94/19, Tarih: 09/2019).

Teşekkür: Bu çalışmada emeği geçen Afyon Kocatepe Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma ve Uygulama Merkezi çalışanlarına teşekkür ederiz.

Açıklama: Bu çalışmanın bir kısmı I. Uluslararası VI. Veteriner Farmakoloji ve Toksikoloji Kongresi'nde (2019) sözlü olarak sunulmuştur.

KAYNAKLAR

- Aebi, H. (1974). Catalase in vitro. In: Bergmeyer, U. (Ed.), *Methods of Enzymatic Analysis*, Academic Press, New York and London, pp. 673–677.
- Alvarez-Moya, C., Reynoso Silva, M., Villalobos Arámbula, A. R., Islas Sandoval, A., Castañeda Vasquez, H., & González Montes, R. M. (2011). Evaluation of genetic damage induced by glyphosate isopropylamine salt using *Tradescantia* bioassays. *Genetics and Molecular Biology*, 34, 127-130.
- Amer, S. M., Aly, F. A. E., Farghaly, A. A., & Ibrahim, A. A. E. (2006). In vitro and in vivo evaluation of the genotoxicity of the herbicide glyphosate in mice. *Bulletin of the National Research Centre* 31(5), 427-446.
- Astiz, M., de Alaniz, M. J., & Marra, C. A. (2009). Antioxidant defense system in rats simultaneously intoxicated with agrochemicals. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 28(3), 465-473.
- Basarslan, S. K., & Basarslan, F. (2023). Intralipid and Caffeic Acid Phenethyl Ester Reverse the Neurotoxic Effects of Organophosphate Poisoning in Rats. *Nigerian Journal of Clinical Practice*, 26(6), 686-693.
- Bayezit, M., & Kart, A. (2021). Serbest Radikaller, Oksidatif Stres ve Hücrel Hasar. *Türkiye Klinikleri Veterinary Sciences-Pharmacology and Toxicology-Special Topics*, 7(3), 1-16.
- Benbrook, C. M. (2019). How did the US EPA and IARC reach diametrically opposed conclusions on the genotoxicity of glyphosate-based herbicides?. *Environmental Sciences Europe*, 31(1), 1-16.
- Beutler, E., Duron, O., & Kelly, B.M. (1963). Improved method for the determination of blood glutathione. *The Journal of Laboratory and Clinical Medicine*, 61, 882–888.
- Bou-Mitri, C., Dagher, S., Makkawi, A., Khreyss, Z., & Hassan, H. (2025). Glyphosate in Food: A Narrative Review. *Journal of Agriculture and Food Research*, 101643.
- Bukowska, B. (2004). 2, 4, 5-T and 2, 4, 5-TCP induce oxidative damage in human erythrocytes: the role of glutathione. *Cell Biology International*, 28(7), 557-563.
- Cathcart, R.F. (1985). Vitamin C: the nontoxic, nonrate-limited, antioxidant free radical scavenger. *Medical Hypotheses*, 18(1), 61-7
- Chen, K., Liu, J. B., Tie, C. Z., & Wang, L. (2022). Trehalose prevents glyphosate-induced testicular damage in roosters via its antioxidative properties. *Research in Veterinary Science*, 152, 314-322.
- Chhabra, S. K., Hashim, S., & Rao, A. R. (1993). Modulation of hepatic glutathione system of enzymes in suckling mouse pups exposed transactationally to malathion. *Journal of Applied Toxicology*, 13(6), 411-416.

- Çavuşoğlu, K., Yapar, K., Oruc, E., & Yalçın, E. (2011). Protective effect of Ginkgo biloba L. leaf extract against glyphosate toxicity in Swiss albino mice. *Journal of Medicinal Food*, 14(10), 1263-1272.
- Dar, M. A., Khan, A. M., Raina, R., Verma, P. K., & Wani, N. M. (2019). Effect of bifenthrin on oxidative stress parameters in the liver, kidneys, and lungs of rats. *Environmental Science and Pollution Research*, 26, 9365-9370.
- De La Casa-Resino, I., Hernández-Moreno, D., Navas, J. M., Soler, F., & Pérez-López, M. (2013). Non-destructive multibiomarker approach in European quail (*Coturnix coturnix coturnix*) exposed to the herbicide atrazine. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 65, 567-574.
- Drabkin, D.L., & Austin, J.H. (1935). Spectrophotometric studies. II. Preparations from washed blood cells; nitric oxide hemoglobin and sulfhemoglobin. *The Journal of Biological Chemistry*, 112, 51-65.
- Draper, H.H., & Hardley, M. (1990). Malondialdehyde determination as index of lipid peroxidation. *Methods in Enzymology*, 186, 421-431.
- Fadel, H. H., Thabet, O. A., Darwish, A. A., & Gamal, M. (2022). Multiple organ dysfunction in mice exposed to glyphosate-based Herbicides. *Egyptian Journal of Chemistry*, 65(132), 417-426.
- Gao, H., Chen, J., Ding, F., Chou, X., Zhang, X., Wan, Y., ... & Wu, Q. (2019). Activation of the N-methyl-D-aspartate receptor is involved in glyphosate-induced renal proximal tubule cell apoptosis. *Journal of Applied Toxicology*, 39(8), 1096-1107.
- Graille, M., Wild, P., Sauvain, J. J., Hemmendinger, M., Guseva Canu, I., & Hopf, N. B. (2020). Urinary 8-OHdG as a biomarker for oxidative stress: a systematic literature review and meta-analysis. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(11), 3743.
- Halliwell, B., & Gutteridge, J. M. C. (2015). *Free Radicals in Biology and Medicine* (5th ed.). Oxford University Press.
- Helal, A., & Moussa, H. (2005). Chromosomal aberrations induced by glyphosate isopropylamine herbicide and trials for diminishing its toxicity using some chemical inactivators and antioxidant. *Veterinary Medical Journal (Giza)*, 53(2), 169-187.
- Hernández-Moreno, D., Míguez, M. P., Soler, F., & Pérez-López, M. (2018). Influence of sex on biomarkers of oxidative stress in the kidney, lungs, and liver of rabbits after exposure to diazinon. *Environmental Science and Pollution Research*, 25, 32458-32465.
- Ince, S., Arslan-Acaroz, D., Demirel, H. H., Varol, N., Ozyurek, H. A., Zemheri, F., & Kucukkurt, I. (2017). Taurine alleviates malathion induced lipid peroxidation, oxidative stress, and proinflammatory cytokine gene expressions in rats. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 96, 263-268.
- Jasper, R., Locatelli, G. O., Pilati, C., & Locatelli, C. (2012). Evaluation of biochemical, hematological and oxidative parameters in mice exposed to the herbicide glyphosate-Roundup®. *Interdisciplinary Toxicology*, 5(3), 133.
- Kanbur, M., Eraslan, G., & Silici, S. (2009). Antioxidant effect of propolis against exposure to propetamphos in rats. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 72(3), 909-915.
- Khan, A. M., & Rampal, S. (2014). Effects of repeated oral administration of pazufloxacin mesylate and meloxicam on the antioxidant status in rabbits. *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science*, 53(4), 399-403.
- Koureas, M., Tsezou, A., Tsakalof, A., Orfanidou, T., & Hadjichristodoulou, C. (2014). Increased levels of oxidative DNA damage in pesticide sprayers in Thessaly Region (Greece). Implications of pesticide exposure. *Science of the Total Environment*, 496, 358-364.
- Kunapareddy, T., & Kalisetty, S. (2021). Glyphosate poisoning—a case report. *Journal of postgraduate medicine*, 67(1), 36-38.
- Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L., & Randall, R.J. (1951). Protein measurement with the Folin phenol reagent. *The Journal of Biological Chemistry*, 193, 265-275.
- Luck, H. (1955). Catalase. In: Bergmeyer, H.U. (Ed.), *Methods in Analysis*. Academy Press, London.
- Mansour, S. A., & Mossa, A. T. H. (2009). Lipid peroxidation and oxidative stress in rat erythrocytes induced by chlorpyrifos and the protective effect of zinc. *Pesticide biochemistry and physiology*, 93(1), 34-39.
- Mazuryk, J., Klepacka, K., Kutner, W., & Sharma, P. S. (2024a). Glyphosate: hepatotoxicity, nephrotoxicity, hemotoxicity, carcinogenicity, and clinical cases of endocrine, reproductive, cardiovascular, and pulmonary system intoxication. *ACS Pharmacology & Translational Science*, 7(5), 1205-1236.
- Mazuryk, J., Klepacka, K., Kutner, W., & Sharma, P. S. (2024b). Glyphosate: Impact on the microbiota-gut-brain axis and the immune-nervous system, and clinical cases of multiorgan toxicity. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 271, 115965.
- Moon, J. M., Chun, B. J., Cho, Y. S., Lee, S. D., Hong, Y. J., Shin, M. H., ... & Ryu, H. H. (2018). Cardiovascular effects and fatality may differ according to the formulation of glyphosate salt herbicide. *Cardiovascular Toxicology*, 18, 99-107.
- Noeman, S. A., Hamooda, H. E., & Baalash, A. A. (2011). Biochemical study of oxidative stress markers in the liver, kidney and heart of high fat diet induced obesity in rats. *Diabetology & metabolic syndrome*, 3, 1-8.
- Ohkawa, H., Ohishi, N., & Yagi, K. (1979). Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Analytical Biochemistry*, 95: 351-358.
- Picetti, E., Generali, M., Mensi, F., Neri, G., Damia, R., Lippi, G., & Cervellin, G. (2017). Glyphosate ingestion causing multiple organ failure: a near-fatal case report. *Acta Bio Medica: Atenei Parmensis*, 88(4), 533.
- Pieniążek, D., Bukowska, B., & Duda, W. (2004). Comparison of the effect of Roundup Ultra 360 SL pesticide and its active compound glyphosate on human erythrocytes. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 79(2), 58-63.
- Roberts, D. M., Buckley, N. A., Mohamed, F., Eddleston, M., Goldstein, D. A., Mehrsheikh, A., ... & Dawson, A. H. (2010). A prospective observational study of the clinical toxicology of glyphosate-containing herbicides in adults with acute self-poisoning. *Clinical Toxicology*, 48(2), 129-136.
- Sies, H., & Jones, D. P. (2020). Oxidative Stress: A Concept in Redox Biology and Medicine. *Redox Biology*, 1(1), 1-6. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2020.101418>
- Smith-Roe, S. L., Swartz, C. D., Rashid, A., Christy, N. C., Sly, J. E., Chang, X., ... & Witt, K. L. (2023). Evaluation of the herbicide glyphosate, (aminomethyl) phosphonic acid, and glyphosate-based formulations for genotoxic activity using in vitro assays. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 64(4), 202-233.

- Sule, R. O., Condon, L., & Gomes, A. V. (2022).** A common feature of pesticides: oxidative stress—the role of oxidative stress in pesticide-induced toxicity. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2022(1), 5563759.
- Sun, Y., Oberley, L.W., & Li, Y. (1988).** A simple method for clinical assay of superoxide dismutase. *Clinical Chemistry*, 34, 497–500.
- Tarım ve Orman Bakanlığı. (2025a).** Resmi tarımsal ilaç istatistikleri. Tarım ve Orman Bakanlığı. Erişim adresi: <https://www.tarimorman.gov.tr/GKGM/Menu/115/Resmi-Tarimsal-Ilac-Istatistikleri>, [Erişim Tarihi: 04.06.2025].
- Tarım ve Orman Bakanlığı. (2025b).** Aktif madde: Glifosat izopropilamin tuzu. Erişim adresi: https://bku.tarimorman.gov.tr/AktifMadde/Details/388?utm_source, [Erişim Tarihi: 04.06.2025].
- Thompson, M., Jaiswal, Y., Wang, I., & Williams, L. (2017).** Hepatotoxicity: treatment, causes and applications of medicinal plants as therapeutic agents. *The Journal of Phytopharmacology*, 6(3), 186-93.
- Trasande, L., Aldana, S. I., Trachtman, H., Kannan, K., Morrison, D., Christakis, D. A., ... & Sathyanarayana, S. (2020).** Glyphosate exposures and kidney injury biomarkers in infants and young children. *Environmental Pollution*, 256, 113334.
- Turkmen, R., & Dogan, I. (2020).** Determination of acute oral toxicity of glyphosate isopropylamine salt in rats. *Environmental Science and Pollution Research*, 27(16), 19298-19303.
- Turkmen, R., Birdane, Y. O., Demirel, H. H., Kabu, M., & Ince, S. (2019a).** Protective effects of resveratrol on biomarkers of oxidative stress, biochemical and histopathological changes induced by sub-chronic oral glyphosate-based herbicide in rats. *Toxicology Research*, 8(2), 238-245.
- Turkmen, R., Birdane, Y. O., Demirel, H. H., Yavuz, H., Kabu, M., & Ince, S. (2019b).** Antioxidant and cytoprotective effects of N-acetylcysteine against subchronic oral glyphosate-based herbicide-induced oxidative stress in rats. *Environmental Science and Pollution Research*, 26, 11427-11437.
- Williams, G. M., Kroes, R., & Munro, I. C. (2000).** Safety evaluation and risk assessment of the herbicide Roundup and its active ingredient, glyphosate, for humans. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 31(2), 117-165.
- Winterbourn, C.C., Hawkins, R.E., Brain, M., Carrell, R.W. (1975).** The estimation of red cell superoxide activity. *The Journal of Laboratory and Clinical Medicine*, 55, 337–341.
- Wunnapuk, K., Gobe, G., Endre, Z., Peake, P., Grice, J. E., Roberts, M. S., ... & Liu, X. (2014).** Use of a glyphosate-based herbicide-induced nephrotoxicity model to investigate a panel of kidney injury biomarkers. *Toxicology Letters*, 225(1), 192-200.
- Zanchi, M. M., Marafon, F., Marins, K., Bagatini, M. D., & Zamonier, A. (2024).** Redox imbalance and inflammation: A link to depression risk in brazilian pesticide-exposed farmers. *Toxicology*, 501, 153706.