

# Klorpirifosun sıçanlarda öğrenmeye etkileri

Emin Şavik, Fatih Gültekin, İnanç Karakoyun, Duygu Kumbul Doğuç,  
Hilmi Demirin, Namık Delibaş

Süleyman Demirel Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, ISPARTA

## Özet

**Amaç:** Klorpirifosun (CPF) öğrenmeyi etkileyip etkilemediği ve öğrenmenin asetilkolin esteraz (AChE) düzeyleri ile ilişkisi çalışmamızda ortaya konulmaya çalışılmıştır. **Gereç ve yöntem:** Genç ve erişkin CPF grupları ve genç ve erişkin kontrol grupları olmak üzere 4 ana grup oluşturuldu. Tüm gruplar ışınal kollu labirentte eğitildiler. Daha sonra CPF enjeksiyonu ve kontrol grubu enjeksiyonuna başlandı. Genç CPF grubuna 40 mg/kg cilt altı, erişkin CPF grubuna 70 mg/kg cilt altı CPF enjeksiyonu yapıldı. Her grup kendi içinde tekrar 2.gün, 7.gün ve 14.gün grubu olmak üzere ayrıldı. 2., 7. ve 14. günlerde ışınal kollu labirentte öğrenme testleri yapılmıştır. Bu test bilgileri kullanılarak Seçim Doğruluğu ve Cevap Gecikmesi parametreleri hesap edilmiştir. Bununla beraber bu günlerde sıçanların AChE aktiviteleri çalışılmıştır. **Bulgular:** CPF, AChE düzeylerini erişkin sıçanlarda tüm günlerde, genç sıçanlarda ise 2. ve 7. günlerde anlamlı olarak düşürmüştür. Işınal kollu labirentte Seçim Doğruluğu ve Cevap Gecikmesi üzerinde ise anlamlı bir değişikliğe neden olmamıştır. **Sonuç:** Uyguladığımız tek doz CPF ile AChE enzim inhibisyonunun genç ve erişkin sıçanlarda öğrenmeyi etkilemediği, dolayısıyla öğrenme ile direkt ilişkisinin olmayabileceği düşünülmüş; farklı doz ve uygulama süresi ile yeni çalışmaların yapılmasıyla daha açıklayıcı sonuçların elde edilebileceği kanaatine varılmıştır.

**Anahtar Sözcükler:** Klorpirifos, Asetilkolin Esteraz, Radyal Kol Labirenti, Seçim Doğruluğu, Cevap Gecikmesi

## Abstract

### The effects of chlorpyrifos on learning in rats

**Aim:** In this study we try to determine whether chlorpyrifos (CPF) administration affects the learning and relation of learning with acetylcholine esterase (AChE) levels. **Materials and methods:** We arrange 4 main groups as adult CPF, juvenile CPF, adult control and juvenile control group. Rats were trained on the working memory task in an eight arm radial maze. After acquisition they underwent enjections of CPF and control group. Juvenile CPF group received 40 mg/kg CPF and adult CPF group received 70 mg/kg CPF subcutaneously. Each group were separated into 3 groups again as 2<sup>nd</sup>, 7<sup>th</sup> and 14<sup>th</sup> groups. Learning tests were applied by using radial arm maze on 2<sup>nd</sup>, 7<sup>th</sup> and 14<sup>th</sup> days. Choice Accuracy and Response Latency parameters were calculated according to the data provided from these tests. Also AChE activities of rats were studied on these days. **Findings:** CPF caused a significant increase in all of the adult rats where as on 2<sup>nd</sup> and 7<sup>th</sup> days in juvenile ones. It did not cause any significant difference on Choice Accuracy and Response Latency. **Results:** It is concluded that the AChE inhibition of chlorpyrifos given at single dose did not affect the learning in juvenile and adult rats, therefore there is no direct relation between CPF and learning; the outcome is that future studies with different doses and administration durations may provide more explanatory results.

**Key words:** Chlorpyrifos, Acetylcholine Esterase, Radial Arm Maze, Choose Accuracy, Response Latency

## Giriş

CPF bahçe, tarım ve orman zararlılarına karşı yaygın olarak kullanılan bir organofosfat insektisit olup insanların maruz kalma potansiyeli oldukça yüksektir (1). Klorpirifos-etil'in temel toksisite mekanizması; klorpirifos-okson ve trikloropridinol tarafından sinir kavşaklarında AChE inhibisyonunu sağlayarak

**Yazışma Adresi:** Dr. Duygu Kumbul Doğuç  
Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi  
Biyokimya Anabilim Dalı 32260 Isparta  
Tel: 0 246 2324027 / 2107  
E-posta: duygukd@yahoo.com

sinaptik terminallerde asetilkolinin toplanmasına ve postsinaptik terminallerde kolinerjik hiperstimülasyona neden olmasıdır. Sonuç, ciddi kolinerjik toksisitedir (2,3).

Deneysel çalışmalar akut, subakut, kronik ve subkronik organofosfat uygulamalarının sonucu ortaya çıkan toksik etkilerin (hepatotoksisite, nörotoksisite, genotoksisite, embriyotoksisite, immünotoksisite gibi) patogenezinde organofosfat insektisitlerin yol açtığı artmış reaktif oksijen metabolitlerinin neden olduğu oksidatif doku hasarının olduğunu ortaya koymuştur (4).

CPF'nin davranış, öğrenme ve hafıza üzerine olan etkileriyle ilgili olarak yapılmış bir dizi çalışma bulunmaktadır (2,3). Deri altı yoluyla CPF uygulamasının akut dönemde sıçanlarda kısa süreli hafızayı etkilediği, kavrama ve motor fonksiyonlarda bozukluklar meydana getirdiği gösterilmiştir. Akut uygulamanın yanı sıra tekrarlayan CPF uygulamalarının da, kavrama ve motor fonksiyonları etkilediğine dair bulgular da vardır. CPF'nin kavrama fonksiyonları üzerindeki tüm bu etkilerinin, deneklerin yaşlarına bağlı olarak farklılıklar gösterdiği gözlenmiştir.

Işınsal kollu labirent testleri kemirgenlerde öğrenmeyi ve hafızayı değerlendirmek için kullanılan modellerden birisidir. Birçok çalışmada çalışan hafızayı ölçmek için yaygın olarak kullanılmıştır (5,6).

Bizim yaptığımız çalışma ile cilt altı tek doz CPF uygulanmasıyla farklı günlerde ışınsal kollu labirent kullanılarak CPF'nin öğrenmeyi etkileyip etkilemediği ve bu sonuçların AChE ile ilgisi ortaya konulmaya çalışılmıştır.

### Gereç ve Yöntem

Bu çalışma Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı Araştırma Laboratuvarları ve Deneysel Araştırma Laboratuvarında gerçekleştirilmiştir.

Bu çalışmada Sprague Dawley cinsi toplam 48 adet erkek sıçan kullanıldı. Deneyde kullanılan sıçanlar, Pamukkale Üniversitesi Hayvan Laboratuvarı'ndan temin edildi. 1 aylık genç ve 3 aylık erişkin olmak üzere iki grup oluşturuldu. Sıçanlar standart ışık (12 saat gün ışığı / 12 saat karanlık), ısı (25 °C)' da yeteri kadar su (çeşme suyu) ve yem (Yem Kurumu Standart Sıçan Yemi) ile dekapite edilinceye kadar beslendiler. Sıçanlar genç kontrol grubu (n=12), genç CPF grubu (n=12), erişkin kontrol grubu (n=12) ve erişkin CPF grubu (n=12) olmak üzere toplam 4 gruba ayrılarak,

özel olarak hazırlanmış kafeslerde gruplar halinde tutuldular. Her bir grup daha sonra kendi içinde 2. gün, 7. gün ve 14. gün olarak gruplara ayrılmıştır. Her bir grup 4'er sıçandan oluşturulmuştur. Genç ve erişkin sıçanlarda CPF uygulanmadan önce akut olarak tolere edebilecekleri maksimum doz belirlenmeye çalışıldı. Literatürlerde erişkin sıçanlar için akut uygulamada maksimum tolere edebilecekleri doz 279 mg/kg, genç sıçanlar için ise 127 mg/kg olarak belirtilmektedir (7,8,9). Erişkin sıçanlara sırasıyla 250, 200, 150, 100 mg/kg CPF uygulaması yapılmıştır. Sıçanların tümünün CPF toksisitesi nedeniyle ölmesinden dolayı, erişkin sıçanlara uygulamak üzere 70 mg/kg dozu belirlendi. Genç sıçanlara ise sırasıyla 125, 100, 75, 50 mg/kg dozları denendi. Sıçanların CPF toksisitesi nedeniyle ölmesinden dolayı genç sıçanlara uygulanmak üzere 40 mg/kg dozu belirlendi.

Uyguladığımız dozlar prenatal dönemde uygulanan dozlardan (0,5-10 mg/kg) oldukça yüksek ancak kolinerjik toksisitenin geliştiği dozlardan (125-250 mg/kg) daha düşük idi ve yüksek doz ile akut etkiyi görmek için tek doz enjeksiyonu yapıldı. Genç kontrol grubu, ağırlıkları 48±16 gr olan 1±0 aylık olan 12 adet sıçandan oluşturuldu. Bu gruptaki hayvanlara genç-CPF grubundakilerle aynı hacimde tek doz cilt altı serum fizyolojik uygulandı. Genç CPF grubu, ağırlıkları 54±9 gr olan 1±0 aylık olan 12 adet sıçandan oluşturuldu. Bu gruptaki hayvanlara 40 mg/kg dozda akut olarak cilt altı CPF (Dursban 4, Dow AgroSciences) tek doz uygulandı. Erişkin kontrol grubu, ağırlıkları 156±13 gr olan 3±0 aylık olan 12 adet sıçandan oluşturuldu. Bu gruptaki hayvanlara erişkin-CPF grubundakilerle aynı hacimde tek doz cilt altı 2 ml/kg olacak şekilde steril serum fizyolojik uygulandı.

Erişkin CPF grubu, ağırlıkları 157±16 gr olan 3±0 aylık olan 12 adet sıçandan oluşturuldu. Bu gruptaki hayvanlara 70 mg/kg dozda akut olarak cilt altı CPF (Dursban 4, Dow AgroSciences) tek doz uygulandı. Sıçanlara uygulanan CPF toplam enjeksiyon hacmi 2 ml/kg olacak şekilde steril serum fizyolojikle seyreltilerek uygulandı.

### Asetilkolin Esteraz

AChE düzeylerinin tayini için dekapitasyon öncesi anestezisi altındaki sıçanın kalbinden kan alınmıştır. Heparinli tüplere alınan numuneler 4000 rpm'de 5 dakika santrifüj edilmiştir. Buradan elde edilen plazmada AChE düzeylerinin tespiti, Roche marka ticari kitler kullanılarak Roche/Hitachi Modular P800 Biyokimya analizöründe (Almanya) çalışılıp sonuçlar

U/L olarak bulunmuştur.

### **Işınsal Kollu Labirent**

Işınsal kollu labirent, çelikten yapılmış ve siyah boyalıdır (Panlab, İspanya). Ortasında merkezi platform etrafında ise 8 tane kolu vardır. Merkezi platformun çapı 35 cm kadardır. 8 koldan her biri 10 x 80 cm<sup>2</sup> boyutlarında, merkeze yakın kısmın yan duvar yüksekliği 30 cm ve uca doğru yükseklik 5 cm olacak şekilde alçalmaktadır. Kolların distal ucunda 4 cm çaplı 1 cm derinliğinde ve distal en uç noktadan 2 cm içeride olan besin (ödül) kabı bulunmaktadır. Işınsal kollu labirent yerden 80 cm yüksekliğindedir. Üç tane ayağı bulunmaktadır. Düz bir zeminde kurulmuştur. Işınsal kollu labirent 4x7x3 m boyutlarında olan bir odanın içerisinde bulunmaktadır. Oda beyaz boyalıdır. Taban ise siyah karo taşından yapılmıştır. Işınsal kollu labirent etrafında birçok ipucu bulunmaktadır. Bir pencere bulunmakta olup bu pencere dışarıdan ışığın girmesini engellemek için siyah kartonla kaplanmış ve sonra siyah perde ile örtülmüştür. Deney boyunca ortamın sessiz olmasına dikkat edilmiştir. Işınsal kollu labirent etrafında 3 adet ışık kaynağı bulunmaktadır ve ışık kaynakları tavana yansıtılarak deney esnasında en az yansımanın oluşması sağlanmaya çalışılmıştır. Işınsal kollu labirent deneyini yaparken her bir kolun besin kabına küçük bir parça Nestle Cornflakes koyuldu. Deney esnasında sıçan yemi yedikten sonra tekrar konulmadı. Ancak her deneme bitiminde kollar alkollü bez ile iyice temizlendi. Işınsal kollu labirentte öğrenme yemek bulma güdüsü ile sağlandığı için deneyden önce sıçanlar normal kilolarının %85' inden aşağıya inmeyecek şekilde, yem kısıtlamasına tabi tutulmuşlardır. Deney haftada 4 gün ve her bir sıçan için günde 5 deneme olacak şekilde, enjeksiyonlar başlamadan önce toplamda 18 deneme ile sıçan eğitimleri yapılmıştır (10). Sıçanlar her denemede 5 saniye uyum süresine tabi tutulmuşlardır. Sıçanlar her denemede 8 kola girdiğinde veya 5 dakikalık süre dolduğunda deneme sonlandırılmıştır. Işınsal kollu labirent ölçümleri eğitim sonrası (CPF uygulaması öncesi) ile CPF uygulamasının 2., 7. ve 14. günlerinde yapıldı.

Işınsal kollu Labirent ölçümleri kullanılarak iki türlü hesaplama yapıldı:

1. Seçim Doğruluğu-SD (Choice Accuracy) : Hatalı giriş yapılana kadar girilen kol sayısı. Hatalı giriş ise sıçanın daha önce girdiği bir kola tekrar girmesi olarak değerlendirildi.
2. Cevap Gecikmesi-CG (Response Latency) : Labirentte geçirilen toplam süre / Toplam girilen kol

sayısı

- Labirentte geçirilen toplam süre:  
a) Sıçan, sekiz kolun hepsine 5 dakikadan daha az sürede girdiyse, tüm kollara girmek için geçirdiği süre saniye olarak alındı.

b) Sıçan, 5 dakika dolduğu halde tüm kollara girmemişse deney sonlandırıldı. Bu durumda toplam süre 5 dakika (300 sn) olarak alındı.

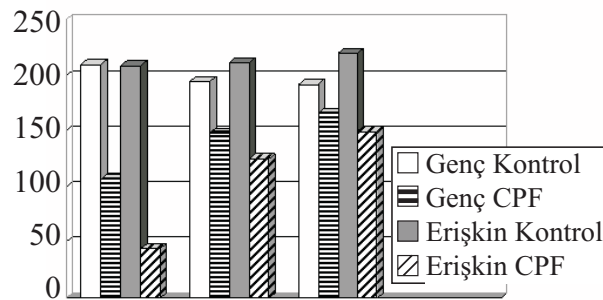
- Toplam girilen kol sayısı: Labirentte geçen toplam süre boyunca girilen doğru ve yanlış toplam kol sayısıdır. Sıçan 5 dakikadan daha az sürede tamamladıysa bu süre zarfında girdiği kol sayısı alındı. 5 dakika dolduğu halde tüm kollara girmemesine rağmen deney sonlandırılmışsa bu zaman zarfında girdiği toplam kol sayısı alınır (3). İstatistiksel değerlendirmeler "SPSS 11.0 for Windows" paket programı kullanılarak yapıldı. Genel olarak aynı gün içindeki CPF-kontrol gruplarını ve CPF verilen grupların günler arasındaki farkları karşılaştırmak için non-parametrik testlerden 2-independent Mann-Whitney U testi, aynı grupların ise eğitim sonrası (CPF öncesi) ile CPF sonrası 2., 7. ve 14. günleri karşılaştırmak için Wilcoxon Signed Ranks testi kullanılmıştır. Sonuçlar ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir. P değerinin 0.05'den küçük olması anlamlı olarak kabul edildi.

### **Bulgular**

Deney süresi boyunca hayvanların davranış ve genel durumları gözlemlendi. CPF uygulanan genç ve erişkin sıçan gruplarında ishal, yorgunluk, istemsiz kas kasılmaları, solunum kaslarının paralizisi gibi kolinerjik toksisite bulgularına rastlanmadı. Doz ayarlaması sonrası deney süresi boyunca hiçbir deney grubunda ölüm olmadı.

### **Asetilkolin Esteraz Düzeyleri**

AChE düzeylerinde genç sıçanlarda CPF uygulanan grup kontrollerle kıyaslandığında 2. ve 7. günde, erişkin sıçanlarda ise 2., 7. ve 14. günde anlamlı bir azalma saptanmıştır (p<0,05). (Şekil 1, Tablo 1)



Şekil 1: Günlere göre AChE (U/L) düzeyleri açısından değerlendirme

Tablo 1: Günlere Göre AChE (U/L) Düzeyleri: (ortalama ± standart sapma)

a: Gençlerde aynı gün içinde kontrol ve CPF grub karşılaştırıldığında anlamlı olanlar ( $p < 0,05$ , Mann Whitney U test)  
 b: Erişkinlerde aynı gün içinde kontrol ve CPF grubu karşılaştırıldığında anlamlı olanlar ( $p < 0,05$ , Mann Whitney U test)

GRUP		2. gün	7. gün	14. gün
GENÇ	Kontrol Grubu	209,75 ± 9,3	194,25 ± 4,35	192,0 ± 8,72
	CPF Grubu	106,50 ± 18,05 <sup>a</sup>	148,00 ± 11,92 <sup>a</sup>	166,00 ± 29,52 <sup>a</sup>
ERİŞKİN	Kontrol Grubu	208,75 ± 16,5	211,25 ± 16,52	220,00 ± 4,08
	CPF Grubu	44,0 ± 14,0 <sup>b</sup>	124,50 ± 15,4 <sup>b</sup>	149,75 ± 15,4 <sup>b</sup>

### İşmsal Kollu Labirent:

Genç ve erişkin sıçanlarda Seçim Doğruluğu ve Cevap Gecikmesi bulguları, eğitim sonrası (CPF öncesi) ve CPF sonrası karşılaştırıldığında anlamlı bir fark bulunmamıştır ( $p > 0,05$ , Wilcoxon Ranks test).

Genç ve erişkin sıçanlarda Seçim Doğruluğu ve Cevap Gecikmesi bulguları, CPF uygulamasının 2., 7. ve 14. günlerinde kontrol ve CPF grupları karşılaştırıldığında anlamlı bir fark bulunmamıştır ( $p > 0,05$ , Mann Whitney U test). (Tablo 2)

Tablo 2: Genç ve erişkin sıçanların Seçim Doğruluğu sonuçları (ortalama ± standart sapma)

		2. gün	7. gün	14. gün	
GENÇ	Kontrol	6,75 ± 0,96	6,75 ± 0,58	6,0 ± 0,82	
	CPF	CPF Öncesi	7,5 ± 0,57	7,0 ± 1,15	7,25 ± 1,5
		CPF Sonrası	7,0 ± 1,15	7,5 ± 0,58	6,75 ± 0,5
ERİŞKİN	Kontrol	7,0 ± 0,82	6,25 ± 0,5	7,0 ± 1,15	
	CPF	CPF Öncesi	7,0 ± 0,82	7,75 ± 0,92	6,75 ± 0,5
		CPF Sonrası	6,5 ± 0,57	6,25 ± 1,06	7,25 ± 0,53

Tablo 3: Genç ve erişkin sıçanların Cevap Gecikmesi sonuçları (ortalama ± standart sapma)

		2. gün	7. gün	14. gün	
GENÇ	Kontrol	24,75 ± 0,96	23,5 ± 0,0	25,0 ± 1,15	
	CPF	CPF Öncesi	27,5 ± 11,55	26,73 ± 6,32	26,48 ± 2,42
		CPF Sonrası	23,7 ± 0,82	23,5 ± 0,58	25,12 ± 1,65
ERİŞKİN	Kontrol	25,75 ± 1,26	24,04 ± 0,82	24,5 ± 1,29	
	CPF	CPF Öncesi	29,5 ± 1,29	21,25 ± 2,16	24,25 ± 3,94
		CPF Sonrası	25,37 ± 0,75	24,34 ± 0,39	24,37 ± 0,95

### Tartışma

#### Asetilkolin Esteraz

CPF toksisitesinde esas mekanizma, klorpirifos-okson tarafından sinir kavşaklarındaki AChE'nin inhibisyonudur (11,12). Gerçekleştirdiğimiz çalışmada CPF'nin genç sıçanlarda 2. ve 7. günlerde, erişkin sıçanlarda ise 2., 7. ve 14. günlerde plazma AChE seviyelerini anlamlı olarak ( $p < 0,05$ ) azalttığını

saptadık. Azalmış olan AChE aktiviteleri, uygulanan CPF dozunun etkin olduğunu göstermektedir. Azalmış olan AChE enzim aktivitesiyle sinir kavşaklarındaki kolinerjik aktivite artar ve bu da toksisiteye neden olur. CPF uygulamasıyla hem genç hem de erişkin sıçanlarda düşmüş olan AChE düzeylerinin, 2. günden 14. güne doğru gidildikçe kontrol seviyelerine yaklaştığı görülmüştür. Bu artış sinir kavşaklarındaki AChE inhibisyonunun derecesinin zamanla zayıflamasına bağlı olabilir veya AChE sentezinin arttığını göstermekte olabilir. Kolinerjik nörotransmisyonadaki değişikliklere özellikle dikkat etmek gerekir, çünkü kolinerjik yollar kavrama fonksiyonlarında kritik bir öneme sahiptir (13,14). Bunun yanında bazı araştırmacılar düşük doz CPF maruziyetinin oluşturduğu gelişimsel nörotoksistide AChE inhibisyonunun rol almadığını ileri sürmüşlerdir. AChE inhibisyonu sağlanan sıçanlarda kolinerjik reseptör antagonistleri kullanarak inhibisyonu ortadan kaldırılmıştır ve ancak öğrenme üzerindeki etkilerin değişmediğini göstermişlerdir (15,16).

#### Öğrenme testleri

Organofosfatların nörotoksik etkilerini araştırmak üzere subklinik dozlarla uzun süreli maruziyet veya akut uygulamalarla çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Subklinik dozlarda uzun süreli maruziyet sonrası konsantrasyon ve hafıza bozukluklarıyla kendini gösteren Organofosfatla İndüklenmiş Nöropsikiyatrik Hastalık ortaya çıkmaktadır. Daha sonraki çalışmalar göstermiştir ki akut zehirlenme olmadığı halde uzun süreli maruziyet sonrası nörofizyolojik standardize test performansında reaksiyonda yavaşlama şeklinde bazı değişiklikler olmuştur (17). Düşük dozlarda kronik maruziyet ile akut maruziyet sonrası oluşan etkiler farklılık göstermektedir. Tek doz veya tekrarlayan düşük dozlarda sarin gazı inhalasyonundan 3 ay sonra bile santral sinir sisteminde ataxi ve stereotipik davranışlar gibi bazı fonksiyonel değişiklikler olduğu gösterilmiştir (17).

Bizim yaptığımız çalışma modeline birebir uyan daha önce yapılan bir çalışma olmamasına rağmen bizim bulgularımız Maurissen ve arkadaşlarının (18,19) ve Sanchez ve arkadaşlarının (17) yaptığı çalışmalarla kısmen benzerlik gösterirken diğer çalışmalarla çelişkiler arz etmektedir (3,20-25).

Maurissen ve arkadaşları, erişkin sıçanlara 4 hafta boyunca haftada 5 gün 1-10 mg/kg arası değişen dozlarda gavajla CPF vermişlerdir. Hafızayı değerlendirmek için Doğru Seçimi Yapmada Gecikme testi (Delayed Matching to Position Task - DMTP) kullanmışlar. DMTP’de kognitif olmayan performans ölçümleri etkilenmiş, motor aktiviteleri azalmıştır. Ancak kısa süreli bellek ve kodlama/motivasyon/dikkat üzerinde herhangi bir değişiklik olmadığını saptamışlardır (18). Sanchez ve ark. CPF ve parathion gibi oxona dönüşerek etkisini gösteren iki organofosfatın akut intoksikasyon sonrası etkilerini araştırmışlar. 166mg/kg CPF cilt altı enjeksiyon yapılmış. Öğrenme-davranışsal test olarak su labirentini ve DMTP kullanmışlar. DMTP’de CPF’ye maruz kalan sıçanlar 3 hafta süren bir gecikmeden sonra kontrollerin performansını yakalamışlar. Su labirentinde ise CPF uygulanan grupta ilk gün kontrol grubuna göre gecikme olduğu ancak daha sonra gruplar arasında bir fark kalmadığını belirtmişler. Kavrama ile ilgili bozukluktan öte motor performans bozukluğuna bağlı değişiklikler olduğunu vurgulamışlar (17). Yaptığımız çalışmada genç ve erişkin sıçanlarda yapılan 2., 7. ve 14. günlerde Seçim Doğruluğu ve Cevap Gecikmesi ölçümleri kontrol grubu ile CPF verilen grup karşılaştırıldığında anlamlı bir fark bulunmamıştır. Benzer şekilde aynı sıçanlarda eğitim sonrası ile CPF enjeksiyonu sonrası karşılaştırıldığında anlamlı bir fark bulunmamıştır. Bu ölçümler ile çalışan hafızanın durumu değerlendirilmektedir. Dolayısıyla çalışmamızda CPF uygulanmasıyla çalışan hafızanın olumsuz olarak etkilenmediği gözlemlenmiştir. Bizim bulgularımızla çelişkili olarak yapılan bazı çalışmalarda tek doz veya uzun süreli CPF’ye maruziyet zihinsel performansı düşürerek öğrenmeyi olumsuz yönde etkilediği gösterilmiştir (3,20-25). Ancak yapılan çalışmaların çoğu prenatal–postnatal dönemi kapsamaktadır. Icenogle ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada gestasyonel ve postnatal CPF maruziyeti üzerinde durulmuş ve bu çalışmada erken gestasyonel dönemde, nöral tüpün oluşması ve kapanması esnasında CPF maruziyetinin sonuçları araştırılmıştır. Öğrenme 16 kollu ışınal labirentte değerlendirilmiştir. Nörolojik gelişim döneminde

yapılan bu çalışmaların sonucunda öğrenme ve kavrama yetisinde bozulma olduğu saptanmıştır (3). Organofosfatın uygulama şekli (cilt altı /oral), kavrama performansının ölçüldüğü sistemlerin farklılığı ve birinin diğerine göre daha karmaşık oluşu, kullanılan doz, uygulama sıklığı ve sıçanların cinsiyeti gibi faktörler çalışmanın sonucunu etkileyen unsurlardır (17). Örnek olarak CPF’ye nöral tüpün gelişimi döneminde maruz kalınmasıyla ciddi olumsuz etkiler oluşurken, erişkin dönemde daha hafif ve geçici etkiler oluşmaktadır. Benzer şekilde dişiler erkeklerden daha fazla etkilenmektedir (3).

Sonuç olarak, uyguladığımız tek doz CPF’nin genç erişkin sıçanlarda öğrenmeyi etkilemediği, bizim elde ettiğimiz düzeyde AChE inhibisyonunun öğrenmeyi olumsuz yönde etkilemediği, dolayısıyla bu düzeydeki inhibisyonun öğrenme ile direkt ilişkisinin olmayabileceği; farklı doz ve uygulama süresi ile yeni çalışmaların yapılmasıyla daha açıklayıcı bulguların elde edilebileceği kanaatine varılmıştır.

#### **Kaynaklar**

1. Agrawal D, Sultana P, Gupta GS. Oxidative damage and changes in the glutathione redox system in erythrocytes from rats treated with hexachlorocyclohexane. *Food Chem Toxicol.* 1991;29(7):459-62.
2. Levin ED, Andy N, Baruah A, Elias A, Christopher NC, Seidler FJ, Slotkin TA. Prenatal chlorpyrifos exposure in rats causes persistent behavioral alterations. *Neurotoxicol Teratol.* 2002; 24 (6): 733-741.
3. Icenogle LM, Christopher NC, Blackwelder WP, Caldwell DP, Qiao D, Seidler FJ, Slotkin TA, Levin ED. Behavioral alterations in adolescent and adult rats caused by a brief subtoxic exposure to chlorpyrifos during neurulation. *Neurotoxicol Teratol.* 2004; 26 (1):95-101.
4. Richardson RJ. Assessment of the neurotoxic potential of chlorpyrifos relative to other organophosphorous compounds: a critical review of the literature. *J Toxicol Environ. Health.* 1995; 44(2): 135-165.
5. Prior H, Schwegler H, Ducker G. Dissociation of spatial reference memory, spatial working memory, and hippocampal mossy fiber distribution in two rat strains differing in emotionality. *Behav Brain Res.* 1997; 87: 183–194, 1997.
6. White AM, Best PJ. The effects of MK-801 on spatial working memory and within-session spatial learning. *Pharmacol Biochem Behav.* 1998; 59: 613–617.
7. Levin ED, Andy N, Nakajima A, Christopher NC, Seidler FJ, Slotkin TA. Persistent behavioral consequences of neonatal chlorpyrifos exposure in rats. *Brain Res Dev Brain Res.* 2001; 130 (1): 83-89.
8. Pope CN, Chakraborti TK, Chapman ML, Farrar JD.

- Long-term neurochemical and behavioral effects induced by acute chlorpyrifos treatment. *Pharmacol Biochem Behav.* 1992 ;42(2):251-6.
9. Liu J, Pope CN. Comparative presynaptic neurochemical changes in rat striatum following exposure to chlorpyrifos or parathion. *J Toxicol Environ Health A.* 1998 10;53(7):531-44.
  10. Rawlins NP, Deacon MJ. Further developments of maze procedures. Saghal A. In: *Behavioral Neuroscience A Practical Approach Volume I.* Oxford University Press, 1993; 95-106.
  11. Gültekin F, Delibaş N, Kutluhan S, Akdoğan M, Kılınç İ, Sütçü R. Rat beyin dokularında chlorpyrifos-ethyl'in neden olduğu antioksidan sistemdeki değişiklikler ile melatonin ve vitamin C + vitamin E'nin koruyucu etkileri. *S.Ü. Tıp Fak. Derg.*, 2001; 17: 79-86.
  12. Buznikov GA, Nikitina LA, Bezuglov VV, Lauder JM, Padilla S and Slotkin TA. An invertebrate model of the developmental neurotoxicity of insecticides: Effects of chlorpyrifos and dieldrin in sea urchin embryos and larvae. *Environmental Health Perspectives.* 2001; 109(7): 651-661.
  13. Slotkin TA, Developmental cholinotoxicants: nicotine and chlorpyrifos, *Environ. Health Perspect.* 1999; 107 (Suppl. 1) 71-80.
  14. Dam K, Garcia SL, Seidler FJ, Slotkin TA, Neonatal chlorpyrifos exposure alters synaptic development and neuronal activity in cholinergic and catecholaminergic pathways, *Dev Brain Res.* 1999; 116 9-20.
  15. Campbell, CG, Seidler FJ, and Slotkin TA. Chlorpyrifos interferes with cell development in rat brain regions. *Brain Res Bull.* 1997; 43, 179-189.
  16. Garcia SJ, Seidler FJ, Crumpton TL, and Slotkin TA. Does the developmental neurotoxicity of chlorpyrifos involve glial targets? Macromolecule synthesis, adenylyl cyclase signaling, nuclear transcription factors, and formation of reactive oxygen in C6 glioma cells. *Brain Res.* 2001; 891: 54-68.
  17. Sanchez-Santed F, Canadas F, Flores P, Lopez-Grancha M, Cardona D. Long- term functional neurotoxicity of paraoxon and chlorpyrifos: behavioral and pharmacological evidence. *Neurotoxicol Teratol.* 2004; 26 : 305-317.
  18. Maurissen JP, Shankar MR, Mattsson JL. Chlorpyrifos: lack of cognitive effects in adult Long-Evans rats. *Neurotoxicol Teratol.* , 2000; 22 (2):237-246.
  19. Maurissen JP, Hoberman AM, Garman RH, Hanley TR Jr. Lack of selective developmental neurotoxicity in rat pups from dams treated by gavage with chlorpyrifos. *Toxicol Sci.* , 2000; 57 (2): 250-263.
  20. Kaplan JG, Kessler J, Rosenberg N, Pack D and Schumburg HH. Sensory neuropathy associated with DURSIBAN (chlorpyrifos) exposure. *Neurology.* , 1993; 43: 2193-2196.
  21. Stanton ME, Mundy WR, Ward T, Dulchinos V and Barry CC. Time dependent effects of acute chlorpyrifos administration on spatial delayed alteration and cholinergic neurochemistry in weanling rats. *Neurotoxicology.* 1994; 15(1): 201-208.
  22. Bushnell PJ, Kelly KL, Ward TR. Repeated inhibition of cholinesterase by chlorpyrifos in rats: behavioral, neurochemical and pharmacological incidences of tolerance. *J Pharmacol Exp Ther.* 1994; 270 (1):15-25.
  23. Terry AV Jr, Stone JD, Buccafusco JJ, Sickles DW, Sood A, Prendergast MA. Repeated exposures to subthreshold doses of chlorpyrifos in rats: hippocampal damage, impaired axonal transport, and deficits in spatial learning. *J Pharmacol Exp Ther.* 2003; 305 (1): 375-384.
  24. Canadas F, Cardona D, Davilla E, Sanchez-Santed F. Long-term neurotoxicity of chlorpyrifos: spatial learning impairment on repeated accusation in a water maze. *Toxicol Sci.* 2005; 85 (5): 944-951.
  25. Levin ED, Persisting effects of chronic adolescent nicotine administration on radial-arm maze learning and response to nicotinic challenges. *Neurobehavioral Teratology Society Annual Meeting Keystone, CO,* 1999