



Deneysel Formaldehit Toksikitesi Sonucu Hipokampusta Oluşan Doku Hasarına Karşı Omega-3 Yağ Asitlerinin Antioksidan Etkileri*

İsmail ZARARSIZ¹
İlter KUŞ²
H.Ramazan YILMAZ³
Evren KÖSE²
Mustafa SARSILMAZ²

¹Mustafa Kemal Üniversitesi
Tayfur Ata Sökmen
Tıp Fakültesi,
Anatomi Anabilim Dalı
Hatay-TÜRKİYE

²Fırat Üniversitesi
Tıp Fakültesi,
Anatomi Anabilim Dalı
Elazığ-TÜRKİYE

³Süleyman Demirel
Üniversitesi
Tıp Fakültesi
Tıbbi Biyoloji ve Genetik
Anabilim Dalı
Isparta-TÜRKİYE

Geliş Tarihi : 11.05.2007
Kabul Tarihi : 13.12.2007

Yazışma Adresi
Correspondence

Mustafa SARSILMAZ

Fırat Üniversitesi
Tıp Fakültesi,
Anatomi Anabilim Dalı
23119
Elazığ-TÜRKİYE

msarsilmaz@hotmail.com

Bu çalışmada, formaldehitin hipokampus üzerine olan nörotoksik etkileri ve bu toksik etkilere karşı omega-3 (ω -3) yağ asitlerinin koruyucu etkisi biyokimyasal düzeyde araştırıldı.

Bu amaçla 21 adet Wistar-Albino cinsi erkek sıçan incelendi. Hayvanlar rastgele seçilerek üç gruba ayrıldı. Grup I'deki sıçanlar kontrol olarak kullanıldı. Grup II'deki sıçanlara gün aşırı olarak ve intraperitoneal (i.p) yolla formaldehit enjekte edildi. Grup III'deki sıçanlara ise, formaldehit enjeksiyonuna ilaveten günlük ω -3 yağ asiti verildi. Sıçanlar ondört günlük deney süresi sonunda dekapitasyon yöntemi ile öldürüldü. Daha sonra sıçanların beyinleri çıkartılarak, hipokampus doku örneklerinde malondialdehit (MDA) seviyeleri ile glutatyon peroksidaz (GSH-Px) ve süperoksit dismutaz (SOD) enzim aktiviteleri spektrofotometrik olarak tespit edildi.

Formaldehit uygulanan sıçanlarda MDA düzeylerinin istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde arttığı tespit edildi. SOD ve GSH-Px enzim değerlerinin ise, yine kontrol grubuna göre anlamlı bir şekilde azaldığı tespit edildi. Formaldehit uygulaması ile birlikte ω -3 yağ asiti verilen sıçanlarda ise, SOD ve GSH-Px enzim aktivitelerinde bir artış olurken, MDA değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir düşüş olduğu görüldü.

Formaldehit uygulamasının sıçan hipokampusunda oksidatif hasar oluşturduğu, ancak bu hasarın ω -3 yağ asiti uygulaması ile önlenildiği tespit edildi.

Anahtar Kelimeler: Formaldehit, ω -3 yağ asiti, hipokampus, oksidatif hasar, sıçan.

Antioxidant Effects Of Omega-3 Fatty Acids on Experimental Formaldehyde Toxicity induced Injury of Hippocampus

In this study, neurotoxic effects of formaldehyde on hippocampus and protective effects of omega-3 (ω -3) fatty acids against these toxic effects were investigated at biochemical level.

For this purpose, 21 adult male Wistar rats were randomly divided into three groups. Rats in group I were used as control. Rats in group II were injected every other day with formaldehyde intraperitoneally. Rats in group III were daily administered ω -3 fatty acid with injection of formaldehyde. At the end of a fourteen-day experimental period, all rats were capitated. Then the brains of rats were removed. The activities of malondialdehyde (MDA), superoxide dismutase (SOD) and glutathione peroxidase (GSH-Px) were determined in the hippocampus specimens by using spectrophotometric methods.

The levels of MDA were significantly increased, SOD and GSH-Px were significantly decreased in rats treated with formaldehyde compared to control. There was a statistically significant decrease in MDA levels and, increase in SOD and GSH-Px levels in rats administered ω -3 fatty acids together with formaldehyde.

It was determined that exposure of formaldehyde caused oxidative damage in hippocampus of rats and this damage was prevented by administration of ω -3 fatty acids.

Key Words: Formaldehyde, ω -3 fatty acids, hippocampus, oxidative injury, rat.

Giriş

Hipokampus lateral ventrikülün alt boynuzu boyunca uzanan serebral korteks parçasıdır. Yaklaşık 5 cm uzunluğunda olan bu yapı kesitlerinde C harfine benzemektedir (1). Limbik sistemin önemli bir parçası olan hipokampus; duygulanım, öğrenme ve hafıza fonksiyonları üzerinde önemli role sahiptir. Bu yüzden beyin birçok bölgesinden hipokampus'a duyu lifleri gelmektedir. Bu duyular, miyelinli liflerden oluşan forniks aracılığıyla talamus, hipotalamus ve septal sahaya ulaştırılmaktadır. Ayrıca hipokampus subkortikal alanlarla olan bağlantısı sayesinde, beyinde birçok bölge ile

* XI. Ulusal Anatomi Kongresi, 26-29 Ekim 2007 Denizli.

iletişim halindedir (1, 2). Hipokampus yeni elde edilen bilgilerin depolanması ve anıların kısa süreli hafızadan uzun süreli hafızaya geçirilmesinde fonksiyon görmektedir. Kısa süreli belleğin uzun süreli belleğe dönüştürülebilmesi için pekiştirilmesi gerekir. Hipokampus bilginin hafızada pekiştirilmesini sağlar. Hipokampus'u çıkarılmış kişiler, anıları kısa süreli bellekten uzun süreli belleğe geçirme yeteneklerini kaybederler. Hatta orta süreli bellek depolama fonksiyonları bile kaybolur. Bu kişiler, hem zekanın temelini oluşturacak yeni ve uzun süreli bellekler oluşturamazlar, hem de geçmişe ait anıların orada olduklarının bilinmesine rağmen hatırlama yeteneğini kaybederler (3).

Formaldehit (FA) bulunduğu her ortamdan oda sıcaklığında gaz haline geçebilen, suda çok iyi çözünen reaktif bir maddedir. Aldehit ailesinin basit bir üyesi olan FA (CH₂O) rensiz, keskin kokulu ve mukoz membranlar için irritandır (4). Sıvı olarak metanolün oksidasyonundan elde edilir. FA vücuda alındıktan sonra karaciğer ve eritrositlerde formaldehit dehidrogenaz enzimi (FDH) katalizörülüğünde formik aside metabolize olur. FDH enzimi bu reaksiyonu gerçekleştirirken kofaktör olarak glutatyonu ihtiyaç duyar. Dolayısıyla bir antioksidan olan glutatyonun azalması FA toksisitesini artırmaktadır (4, 5).

Endüstriyel sahada FA yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Boya ve plastik sanayi, yapı izolasyon malzemeleri, tekstil endüstrisinde, kontaplak sanayisinde, halı, mobilya, duvar kaplamalarında ve ev temizlik ürünlerinde kullanılmaktadır (6). Tıp alanında ise, FA'nın kullanımı laboratuvarlarda yoğunlaşmaktadır. Anatomide kadavra ve organların tespiti, bozulmadan uzun süre saklanması FA havuzlarında yapılmaktadır. Yine diseksiyon yapan anatomistler ve tıp fakültesi öğrencileri FA'dan etkilenmektedir. Histoloji ve patoloji laboratuvarlarında dokuların fiksasyon aşamasında kullanılmaktadır (7). Diş hekimliğinde kaplamaların yapısında, klinikte inatçı sistit tedavisinde ve bazı ilaçlarda da koruyucu madde olarak FA'dan faydalanılmaktadır. Ayrıca hemodiyaliz solüsyonları da formalin içermektedir. Sigara dumanının da formaldehit içerdiği bilinmekte ve her pakette ortalama olarak 0.38 mg kadar alınmaktadır. Dizel araçların eksoz dumanında, fuel-oil, benzin ve doğal gazda, ağaç ve odunun yanmasıyla ortaya çıkan FA, hava kirliliğinin sebepleri arasında gösterilmektedir (8, 9).

FA toksik etkilerini nonenzimatik yolla DNA, RNA, protein ve doymamış yağ asitleri ile güçlü bir şekilde birleşerek gerçekleştirme eğilimindedir (10). FA'nın nörotoksik etkileri erken dönemde baş ağrısı, baş dönmesi, keyifsizlik, uykusuzluk ve iştahsızlık şeklinde kendini göstermektedir. Daha uzun süreli etkilenmelerde ise, duyu-durum bozuklukları, davranış bozuklukları ve epilepsi belirtileri ortaya çıkabilmektedir. Yine yapılan deneysel çalışmalarda sistemik uygulanan FA'nın motor hareketlerde yavaşlama, davranış bozukluğu, öğrenme testlerinde bozukluk ve ruhsal dengesizlik yaptığı bildirilmiştir (11, 12).

Eikozapentaenoik asit (EPA), dokozaheksanoik asit (DHA) ve α -linolenik acid (ALA) omega-3 (ω -3) yağ asidi olarak sınıflandırılmaktadır. DHA ve EPA poliansatüre yağ asidi (PUFA) bileşenidirler ve balık yağında bol miktarda bulunurlar. ALA ise, bitkisel kaynaklı yağ asidi olup, soya, ceviz, keten tohumu ve yeşil yapraklı sebzelerle alınır (13, 14). Birkaç enzimatik reaksiyon sonucunda ALA'dan EPA üretilebilmektedir. EPA'dan da, DHA sentezlenebilmektedir. Fakat ALA'nın sadece % 5'i yukarıda bahsedilen metabolik enzim zincirine girebilir. ALA diyet ile alındığında DHA seviyesi değişmediği halde dokudaki EPA seviyesi artar (15). DHA, özellikle beyin, retina ve diğer nöral dokularda yoğun olarak bulunan ve hücre membranının yapısına katılan bir yağ asitidir. Sinir sisteminin gelişiminde önemli role sahip DHA, serebral korteks yağ içeriğinin % 15-20'sini oluşturur. Ayrıca DHA aksonal yapıyı koruyarak elektriksel uyarıların iletilmesine katkıda bulunur (16).

Gereç ve Yöntem

Yapılan bu deneysel çalışmada, 310-320 gr ağırlığında 21 adet Wistar-Albino cinsi erkek sıçan kullanıldı. Hayvanlar her bir grupta yedi (n=7) hayvan olmak üzere üç gruba ayrıldı. Grup I'deki kontrol sıçanlara gün aşırı intraperitoneal (i.p) serum fizyolojik enjekte edildi. Grup II'deki sıçanlara ise, yine gün aşırı serum fizyolojik ile 1/10 oranında sulandırılmış 10 mg/kg dozundaki formaldehit (FA) i.p olarak uygulandı. Grup III'deki sıçanlara da gün aşırı olarak uygulanan FA'ya ilave olarak 400 mg/kg dozundaki omega-3 (ω -3) yağ asidi (*Marincap kapsül*[®]) intragastrik gavaj yoluyla günlük olarak verildi. Sıçanların tamamı ondört günlük deney süresi sonunda dekapitasyon yöntemiyle öldürüldü. Biyokimyasal değerlendirmeler için hızla çıkartılan hipokampus doku örnekleri, 0.15 M'lık soğuk (+4°C) potasyum klorür (KCl) ile yıkandı ve kurutma kağıdı ile kurutuldu. Dokular tartılarak değerler kaydedildi. Daha sonra dokular homojenizatör ile (Ultra Turrax Type T25-B, IKA Labortechnik, Germany) 0.15 M'lık 4 ml KCl içerisinde 16000 rpm'de 3 dakika homojenize edildi. Homojenizasyon bir buz kabının içerisinde gerçekleştirildi. Homojenat 5000xg'de 1 saat (+4°C'de) santrifüjlenerek süpernatant elde edildi ve analiz zamanına kadar (1 hafta) -40°C'de bekletildi. Süperoksit dismutaz (SOD), glutathione peroxidase (GSH-Px) süpernatantta ve malondialdehit (MDA) seviyeleri homojenatta spektrofotometrik olarak tayin edildi.

GSH-Px tayini: Glutatyon peroksidaz aktivitesi Paglia ve ark.'nın (17) metoduna göre çalışıldı. GSH-Px hidrojen peroksit varlığında redükte glutatyonun (GSH) okside glutatyon (GSSG) yükseltgenmesini katalize eder. Hidrojen peroksidin bulunduğu ortamda GSH-Px'in oluşturduğu GSSG, glutatyon redüktaz ve NADPH yardımı ile GSH'a indirgenir. GSH-Px aktivitesi, NADPH'ın NADP⁺'ya yükseltgenmesi sırasındaki absorbans azalmasının 340 nm'de okunmasıyla hesaplandı ve ünite/gram (U/g) doku proteini şeklinde belirtildi.

SOD Tayini: Süperoksit dismutaz enzimi Sun ve ark.'nın (18) modifiye ettiği metotla tayin edildi. Bu metodun prensibi nitroblue tetrazolium'un (NBT) süperoksit üreticisi olan ksantin-ksantinoksidaz sistemi tarafından indirgenmesi esasına dayanmaktadır. SOD aktivitesi ünite/g (U/g) doku proteini olarak ifade edildi.

MDA Tayini: Lipid peroksidasyon ölçüm metodu olan Esterbauer metodu uygulanarak yapıldı (19). Tiyoobarbutirik asit ile 90-95 °C'de reaksiyona giren malondialdehit, pembe renkli kromojen oluşturmaktadır. Onbeş dakika sonra hızla soğutulan numunelerin absorbanları 532 nm'de spektrofotometrik olarak okundu. Elde edilen değerler nmol/g protein cinsinden belirtildi.

Protein Tayini: Doku protein miktarı Lowry ve ark.'nın metoduna göre dokudan homojenatta ölçüldü (20).

İstatistik Analizi: PC ortamında "SPSS 11.0 for windows" istatistik programı kullanıldı. Grupların dağılımları Non-parametrik testlerden one-sample Kolmogorov-Smirnov Test ile değerlendirildi. Grupların karşılaştırılmasında parametrik testlerden one-way ANOVA testi ve Post Hoc testlerden LSD kullanıldı. İstatistiksel anlamlılık için p<0.05 olan değerler anlamlı kabul edildi.

Bulgular

Hipokampus doku örneklerinde spektrofotometrik olarak süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GSH-Px) ve malondialdehit (MDA) değerleri belirlendi. Formaldehit (FA) uygulanan sıçanlarda, oksidatif antioksidan enzimler olan SOD ve GSH-Px değerlerinin kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azaldığı görüldü (p<0.05). Ayrıca dokuda lipid peroksidasyonun bir göstergesi olan ve oksidatif hasarı belirlemede önemli bir parametre olarak alınan MDA düzeylerinin de, yine bu grupta istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde arttığı tespit edildi (p<0.05). Formaldehit injeksiyonu ile birlikte omega-3 (ω-3) yağ asitleri uygulanan sıçanlarda ise, SOD ve GSH-Px enzim düzeylerinin anlamlı bir şekilde arttığı (p<0.05), MDA seviyelerinin de yine anlamlı bir şekilde azaldığı görüldü (p<0.05) (Tablo 1).

Tablo 1. Çalışma gruplarına ait SOD, GSH-Px ve MDA değerleri.

Gruplar	n	SOD (U/g protein)	GSH-Px (U/g protein)	MDA (nmol/g protein)
Kontrol	7	276.3 ± 15.1	81.2 ± 9.4	22.6 ± 2.0
FA	7	89.6 ± 8.3*	28.8 ± 4.2*	44.6 ± 2.6*
FA + Omega-3	7	294.7 ± 4.2**	89.5 ± 3.2**	20.1 ± 1.7**

Değerler ortalama ± SS şeklinde verildi. n: denek sayısı; *: p<0.05 (Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında); **: p<0.05 (FA grubu ile karşılaştırıldığında).

Tartışma

Sinir sistemi üzerine formaldehitin (FA) toksik etkileri yapılan çalışmalarla ortaya konmuştur. Çalışma ortamlarında FA'ya maruz kalan kişilerde baş ağrısı, iritabilite, uyku düzensizlikleri, duyu durum bozukluğu ve hafıza bozukluklarının ortaya çıktığı tespit edilmiştir (8, 11). Gürel ve ark. (21) yapmış oldukları çalışmada, ksilen ve FA'nın hipokampus ve frontal korteks üzerinde toksik etkilerinin olduğunu göstermişlerdir. Her iki beyin bölgesinde nöronal dejenerasyon ve piknotik hücre oluşumu tespit etmişlerdir. Benzer şekilde Songur ve ark. (12) neonatal ratlar üzerinde yapmış oldukları çalışmada, FA'nın hipokampus dokusunda; dokuda bir stresin göstergesi olan HSP-70 (ısı şoku proteini) varlığını göstermişlerdir. Ayrıca FA'dan etkilenme sonucu nöronlarda piknotik hücre oluşumunda artış olduğunu bildirmişlerdir.

Organizmalar oksidatif hasara karşı enzimatik ve nonenzimatik antioksidan sistem ve moleküllerle korunur. Hücre seviyesinde etkili olan enzimatik antioksidan sistemler içerisinde SOD ve GSH-Px yer alır (22). Yine Gürel ve ark. yapmış oldukları çalışmada SOD ve CAT gibi antioksidan enzim değerlerinde anlamlı bir azalmanın olduğunu bildirmişlerdir (21). İzole sıçan hepatositlerinde Teng ve ark.'nın (23) yaptıkları deneysel çalışmada da, FA'nın düşük konsantrasyonlarının bile oksidatif hasara yol açtığını tespit edilmiştir. Bizde, daha önce yapmış olduğumuz deneysel çalışmalarda, i.p yolla FA enjekte ettiğimiz sıçanlara ait prefrontal korteks dokusunda SOD ve GSH-Px enzim aktivitelerinin kontrol grubu ile kıyaslandığında anlamlı bir şekilde düştüğünü ortaya koyduk (8, 24). Yapmış olduğumuz bu çalışmada da, FA uygulanan sıçanlardan alınan hipokampus doku örneklerinde SOD ve GSH-Px enzim aktivitelerinde istatistiksel olarak anlamlı azalma olduğunu tespit ettik. Antioksidan enzim aktivitelerinde meydana gelen bu azalma, FA'nın hipokampus dokusunda oksidatif hasara neden olduğunu göstermektedir.

Dokuda oluşan oksidatif hasarı göstermede yaygın olarak kullanılan parametrelerden birisi de MDA değerleridir. MDA lipid peroksidasyonu sonucu oluşan ürünlerden biridir (25). Teng ve ark. (23), sıçanlar üzerinde yaptıkları çalışmalarında formaldehit uygulamasının lipid peroksidasyona neden olduğunu bildirmişlerdir. Benzer şekilde Gürel ve ark. (21) da yapmış oldukları çalışmada, ksilen ve FA'ya maruz kalma sonucu hipokampus ve frontal korteksten alınan doku örneklerinde, MDA düzeylerinde anlamlı artış olduğunu gözlemlemişlerdir. Bizim çalışmamızda da, FA uyguladığımız grupta hipokampus doku örneklerinde MDA seviyelerinin kontrol grubuna göre anlamlı bir şekilde arttığı görülmüştür. MDA düzeyindeki bu artış, formaldehitin hipokampusu lipid peroksidasyonuna ve oksidatif hasara yol açtığını göstermektedir.

Omega-3 yağ (ω-3) asitleri hücre membranının yapısına katılan esansiyel yağ asitleridir ve hücrenin normal fonksiyonlarını sürdürebilmesi için gereklidir. Özellikle beyin, retina ve diğer nöral dokularda yoğun olarak bulunan ve hücre membranının yapısına katılan

DHA, sinir sisteminin gelişiminde önemli rol oynar. DHA, aksonal yapıyı koruyarak elektriksel uyarıların düzgün olarak iletilmesine de katkıda bulunur (16, 26- 28).

Yapılan çalışmalarda, ω -3 yağ asitlerinin antioksidan, antienflamatuvar, antihipertansif özellikler içerdiğini ve bu nedenle organizma için koruyucu özellik gösterdiği bildirilmiştir (15). Martin ve ark. (28) yapmış oldukları çalışmalarında, radyasyon ve yaşa bağlı beyinde apoptotik değişikliklerin meydana geldiği ve bu hasarın EPA uygulamasıyla anlamlı bir düzelme meydana geldiğini bildirmişlerdir. Yine Lonergan ve ark. (29), EPA'nın hipokampusta gama radyasyon maruziyeti ile oluşan nöronal hasar üzerine koruyucu etki gösterdiğini bildirmişlerdir. ω -3 yağ asitlerinin nöronal hasara karşı olan koruyucu etkisinin mekanizması tam olarak bilinmemektedir. Ancak ω -3 yağ asitlerinin, oksidatif

süreçte azalmaya yüz tutmuş çoklu doymamış yağ asitlerinin (PUFA) yerine geçmek suretiyle koruyucu etkisini gösterdiği ileri sürülmüştür (30). Çalışmamızda da, hipokampus dokusunda FA maruziyetine sonucu oluşan oksidatif hasarın ω -3 yağ asitleri tarafından önlendiğini gösteren bulgular tespit edildi. FA ile birlikte ω -3 yağ asitleri verilen sıçanlarda SOD ve GSH-Px enzim seviyelerinde istatistiksel olarak anlamlı artış meydana geldiği MDA seviyelerinin ise yine anlamlı olarak azaldığı görüldü.

Sonuç olarak, FA uygulamasının hipokampus dokusunda oksidatif hasara yol açtığı ve bu hasara karşı ω -3 yağ asitlerinin koruyucu etki gösterdiği tespit edildi.

Kaynaklar

- Arıncı K, Elhan A. Anatomi. 3. Baskı, Ankara: Güneş Kitabevi, 2001; 318-321.
- Songur A, Özen OA, Sarsılmaz M. Hipocampus. J Med Sci 2001; 21: 427-431.
- Guyton AC, Hall JE. Tıbbi Fizyoloji. Çavuşoğlu H (Çev. Ed.). 1. Baskı, İstanbul: Nobel, 2001; 686-687.
- Smith AE. Formaldehide. Occup Med 1992; 42: 83-88.
- Zararsız I, Kus I, Akpolat N, Ogeturk M, Kose E, Meydan S, Sarsılmaz M. Melatonin prevents formaldehyde-induced neurotoxicity in prefrontal cortex of rats: an immunohistochemical and biochemical study. Cell Biochem Funct 2007; 25: 413-418.
- Blair A, Stewart PA, Hoover RN. Mortality from lung cancer among workers employed in formaldehyde industries. Am J Ind Med 1990; 17: 683-699.
- Kim H, Kim YD, Cho SH. Formaldehyde exposure levels and serum antibodies to formaldehyde human serum albumin of Korean medical students. Arch Environ Health 1998; 54: 115-118.
- Zararsız I, Kus I, Akpolat N, Songur A, Ogeturk M, Sarsılmaz M. Protective effects of ω -3 essential fatty acids against formaldehyde-induced neuronal damage in prefrontal cortex of rats. Cell Biochem Funct 2006; 24: 237-244.
- Zararsız I, Sönmez MF, Yılmaz HR et al. Effects of omega-3 essential fatty acids against formaldehyde-induced nephropathy in rats. Toxicol Ind Health 2006; 22: 223-229.
- Bolt HM, Experimental toxicology of formaldehyde. J. Cancer Res Clin Oncol 1987; 113: 305-309.
- Usanmaz SE, Akarsu ES, Vural N. Neurotoxic effects of acute and subacute formaldehyde exposures in mice. Envir Toxicol Pharmacol 2002; 11: 93-100.
- Songur A, Akpolat N, Kus I, Ozen OA, Zararsız I, Sarsılmaz M. The effects of the inhaled formaldehyde during the early postnatal period in the hippocampus of rats: a morphological and immunohistochemical study. Neurosci Res Commun 2003; 33:168-178.
- Mirnikjoo B, Brown SE, Kim HF, Marangell LB, Sweatt JD, Weeber EJ. Protein kinase inhibition by omega-3 fatty acids. J Biol Chem 2001; 276: 10888-10896.
- Mantzioris E, Cleland LG, Gibson RA, Neumann MA, Demasi M, James MJ. Biochemical effects of a diet containing foods enriched with n-3 fatty acids. Am J Clin Nutr 2000; 72: 42-48.
- Yılmaz HR, Songur A, Özyurt B, Zararsız İ, Sarsılmaz M. The effects of n-3 polyunsaturated fatty acids by gavage on some metabolic enzymes of rat liver. Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids 2004; 71: 131-135.
- Bourre JM, Bonneil M, Chaudiere J, Clement M, Dumont O, Durand G. Structural and functional importance of dietary polyunsaturated fatty acids in the nervous system. Adv Exp Med Bio 1992; 318: 211-229.
- Paglia DE, Valentine WN. Studies on the quantitative and qualitative characterisation of erythrocyte glutathione peroxidase. J Lab Clin Med 1967; 70: 158-169.
- Sun Y, Oberley LW, Li Y. A simple method for clinical assay of superoxide dismutase. Clin Chem 1988; 34: 497-500.
- Esterbauer H, Cheeseman KH. Determination of aldehydic lipid peroxidation products: malonaldehyde and 4-hydroxynonenal. Methods Enzymol 1990; 186: 407-421.
- Lowry OH, Rosenbrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the folin phenol reagent. J Biol Chem 1951; 193: 265-275.
- Gürel A, Coşkun O, Armutçu F, Kanter M, Ozen OA. Vitamin E against oxidative damage caused by formaldehyde in frontal cortex and hippocampus: biochemical and histological studies. J Chem Neuroanat 2005; 29: 173-178.
- Akyol Ö. Beyin tümörlerinde doku SOD, CAT ve GSH-Px aktiviteleri. Uzmanlık tezi, Ankara: Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, 1994.
- Teng S, Beard K, Pourahmad J et al. The formaldehyde metabolic detoxification enzyme systems and molecular cytotoxic mechanism in isolated rat hepatocytes. Chem Biol Interact 2001; 130-132: 285-296.
- Kuş İ, Zararsız İ, Yılmaz HR, Türkođlu AÖ, Pekmez H, Sarsılmaz M. Sıçan prefrontal korteksinde formaldehit maruziyetiyle oluşan oksidatif hasara karşı melatonin hormonunun koruyucu etkisi. Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi 2004; 13: 1-7.

25. Kamal AA, Gomaa A, el Khafif M, Hammad AS. Plasma lipid peroxides among workers exposed to silica or asbestos dust. *Environ Res* 1989; 49: 173-180.
26. Stone NJ. Fish consumption, fish oil, lipids, and coronary heart disease. *Am J Clin Nutr* 1997; 65: 1083-1086.
27. Miyasaka CK, Alves de Souza JA, Torres RP, Mancili FJ, Lajolo FM, Curi R. Effect of the administration of fish oil by gavage on activities of antioxidant enzymes of rat lymphoid organs. *Gen Pharmacol* 1998; 30: 759-762.
28. Martin DS, Lonergan PE, Boland B, Fogarty MP, Brady M. Apoptotic changes in the aged brain are triggered by interleukin-1beta-induced activation of p38 and reversed by treatment with eicosapentaenoic acid. *J Biol Chem* 2002; 277: 34239-34246.
29. Lonergan PE, Martin DS, Horrobin DF, Lynch MA. Neuroprotective effect of eicosapentaenoic acid in hippocampus of rats exposed to gamma-irradiation. *J Biol Chem* 2002; 277: 20804-20811.
30. Halliwell B. Free radicals, antioxidants, and human disease; curiosity, cause or consequence? *Lancet* 1994; 344: 721-724.

