

Deneysel Formaldehit Toksisitesinde Testis SOD, GSH-Px, MDA Düzeyleri ve ω -3 Yağ Asitlerinin Koruyucu Etkisi

İlter KUŞ^{a1}, İsmail ZARARSIZ¹, Murat ÖGETÜRK¹, H. Ramazan YILMAZ², Mustafa SARSILMAZ¹

¹ Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Anatomi Anabilim Dalı, ELAZIĞ

² Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, ISPARTA

ÖZET

Amaç: Biyokimyasal düzeyde yapmış olduğumuz bu çalışmada, formaldehit toksisitesinin testisler üzerindeki etkilerinin incelenmesi amaçlandı. Bunun yanı sıra, bu toksisiteye karşı omega-3 yağ asitlerinin olası antioksidan etkileri de değerlendirildi.

Gereç ve Yöntem: Çalışmamızda, toplam 21 adet Wistar-Albino cinsi erişkin erkek sıçan üç eşit gruba ayrıldı. I. gruptaki sıçanlar kontrol olarak kullanıldı. II. gruptaki hayvanlara gün aşırı olarak ve de intraperitoneal yolla formaldehit enjekte edildi. Son gruptaki sıçanlara ise formaldehit enjeksiyonu ile birlikte intragastrik gavaj yoluyla ve günlük olarak omega-3 yağ asiti (Marincap kapsül®) verildi. 14 günlük uygulama periyodu sonunda bütün hayvanlar dekapite edilerek testisleri çıkartıldı. Daha sonra testis doku örneklerine ait süperoksit dismutaz (SOD) ve glutatyon peroksidaz (GSH-Px) enzim aktivasyonları ile malondialdehit (MDA) düzeyleri spektrofotometrik olarak belirlendi.

Bulgular: Sadece formaldehit verilen gruba ait biyokimyasal değerler incelendiğinde, testis SOD ve GSH-Px enzim aktivasyonlarının kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir biçimde azalmış olduğu, MDA düzeylerinin ise yine anlamlı bir şekilde yükseldiği görüldü. Diğer yandan, formaldehit uygulaması ile birlikte omega-3 yağ asiti verilen sıçanlarda, testis doku örneklerine ait SOD ve GSH-Px enzim değerlerinin arttığı, MDA seviyelerinin de azaldığı tespit edildi.

Sonuç: Sıçanlar üzerinde gerçekleştirmiş olduğumuz bu çalışmada, deneysel formaldehit toksisitesi sonucu testislerde meydana gelen oksidatif doku hasarının omega-3 yağ asitleri tarafından engellendiği biyokimyasal olarak ortaya kondu. ©2008, Fırat Üniversitesi, Tıp Fakültesi

Anahtar kelimeler: Formaldehit, testis, oksidatif doku hasarı, Omega-3 yağ asitleri

ABSTRACT

Testicular SOD, GSH-Px and MDA Levels in Experimental Toxicity of Formaldehyde and Protective Effect of ω -3 Fatty Acids

Objective: In this study, it was aimed to investigate the effects of formaldehyde toxicity on the testes at biochemical level. Potential antioxidant effects of ω -3 fatty acids against these toxic effects were also evaluated. Materials and

Materials and Methods: In our study, a total of 21 adult male Wistar rats were divided into three equal groups. Rats in group I were used as control. Rats in group II were injected intraperitoneally with formaldehyde every other day while the other ones received ω -3 fatty acids daily via intragastric gavage (Marincap capsule®) with injections of formaldehyde. At the end of 14-days experimental period, all animals were killed by decapitation and their testes were removed. Afterwards, the activities of superoxide dismutase (SOD) and glutathione peroxidase (GSH-Px), and the level of malondialdehyde (MDA) in testicular tissue specimens were determined spectrophotometrically.

Results: Biochemical values of group-treated formaldehyde alone showed that the enzymatic activities of testicular SOD and GSH-Px were significantly decreased compared to control values, while testicular MDA levels were significantly increased. On the other hand, it was found that there were increases in SOD and GSH-Px enzyme activities, and decreases in MDA levels in testis specimens of rats administered ω -3 fatty acids with exposure of formaldehyde.

Conclusions: In this study performed on rats, it was determined biochemically that oxidative tissue damage in testes resulting from experimental toxicity of formaldehyde was prevented by omega-3 fatty acids. ©2008, Fırat University, Medical Faculty

Key words: Formaldehyde, testis, oxidative tissue damage, Omega-3 fatty acids

Formaldehit (HCHO); renksiz, keskin kokulu ve suda çok iyi çözünen bir aldehittir. Oda sıcaklığında rahatlıkla gaz haline dönüşebilen bu madde kuvvetli bir elektrofilik özelliğe sahiptir. Organizmaya dışarıdan alınan formaldehit vücut içerisinde depo edilmez. Formaldehit dehidrogenaz (FDH) enzimi aracılığıyla karaciğer ve eritrositlerde formik asite metabolize olan bu kimyasal ajan idrar ve dışkı yoluyla ya da karbondioksit okside olarak solunum yoluyla atılır (1,2).

Formaldehit üretiminin yapıldığı ya da kullanıldığı endüstriyel alanlardaki meslek grupları ile tıp laboratuvarlarında çalışan kişiler bu kimyasal maddenin olumsuz etkileri ile karşı karşıya kalmaktadırlar. Yapılan deneysel araştırmalarla kanserojenik olduğu vurgulanan formaldehitin, solunum sistemi, sinir sistemi ve sindirim sistemi gibi birçok sistem üzerinde zararlı etkiler gösterdiği ortaya konmuştur (1-7). Üreme sistemi üzerinde de olumsuz etkiler gösteren formaldehitin, germinal hücrelere zarar verdiği ve fertilité problemlerine yol açtığı bildirilmiştir (8).

^a Yazışma Adresi: Dr. İlter Kuş, Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Anatomi Anabilim Dalı, 23119 ELAZIĞ

Tel: +90 424 237 00 00

Fax: +90 424 2379138

e-mail: ilterkus@hotmail.com

Deney hayvanları üzerinde gerçekleştirilmiş olan çalışmalarda, formaldehit maruziyetinin testis morfolojik yapısını bozduğu, sperm sayısı ve serum testosteron düzeylerinde de bir azalmaya neden olduğu ifade edilmiştir (9-11).

Dokozaheksanoik asit (DHA) ve eikozapentaenoik asit (EPA) ve α -linolenik asit (ALA) omega-3 yağ asitleri olarak bilinir. Balık yağında bol miktarda bulunan DHA ve EPA uzun zincirli çoklu doymamış yağ asitleri (PUFA) üyelerindedir (12). Omega-3 yağ asitleri hücre membranının yapısına katılan esansiyel yağ asitleridir ve hücrenin normal fonksiyonlarını sürdürebilmesi için gereklidir (13,14). Bunun yanı sıra, omega-3 yağ asitlerinin antioksidan, antienflamatuar ve antihipertansif özelliklere de sahip olduğu daha önce yapılmış olan deneysel çalışmalarda bildirilmiştir (6,15-18).

Bu yüzden, sıçanlar üzerinde gerçekleştirmiş olduğumuz bu çalışmada, testisler üzerindeki formaldehit toksisitesi ve bu toksisiteye karşı omega-3 yağ asitlerinin koruyucu etkisi biyokimyasal düzeyde incelenmiştir.

GEREÇ ve YÖNTEM

Araştırmamızda, ortalama ağırlıkları 310 ile 320 gr arasında değişen Wistar-Albino cinsi erkek sıçanlar kullanıldı. Toplamda 21 adet olan sıçanlar üç eşit gruba ayrıldı. Kontrol grubu olarak düzenlenen hayvanlara (Grup I) gün aşırı olarak ve intraperitoneal (i.p) yolla sadece serum fizyolojik enjekte edildi. Grup II'ye ait olan sıçanlara ise, yine gün aşırı olarak ve serum fizyolojik ile 1/10 oranında sulandırılmış 10 mg/kg dozundaki formaldehit i.p olarak uygulandı. Grup III'deki sıçanlara da gün aşırı olarak enjekte edilen formaldehitin yanı sıra, 400 mg/kg dozundaki omega-3 yağ asiti (Marincap kapsül®) intragastrik gavaj yoluyla günlük olarak verildi.

14 günlük uygulama periyodu sonunda bütün hayvanlar dekapitasyon yöntemiyle öldürüldü. Sıçanların testisleri çıkartılarak çevre dokulardan temizlendi. Elde edilen testis doku örnekleri soğuk (+4 °C) 0.15 M'lık potasyum klorür (KCl) ile yıkandı ve kurutma kağıdı ile kurutuldu. Daha sonra dokular homojenizatör ile (Ultra Turrax Type T25-B, IKA Labortechnik, Germany) 0.15 M'lık KCl çözeltisi içinde 16000 rpm'de 3 dakika homojenize edildi. Homojenizasyon bir buz kabının içerisinde gerçekleştirildi. Homojenat 5000 g'de 1 saat (+4°C'de) santrifüjlenerek süpernatant elde edildi ve analiz zamanına kadar (1 hafta) -40 °C'de bekletildi. SOD, GSH-Px enzim aktiviteleri süpernatantta, MDA düzeyleri ise homojenatta spektrofotometrik olarak tayin edildi.

SOD tayini: SOD enzim değerleri Sun ve ark. (19)'nın modifiye ettiği metotla belirlendi. Bu metodun prensibi nitroblue tetrazolium'un (NBT) süperoksit üreticisi olan ksantin-ksantinoksidaz sistemi tarafından indirgenmesi esasına dayanmaktadır. Çalışmamızda SOD aktivitesi ünite/gram (U/g) doku proteini olarak ifade edildi.

GSH-Px tayini: GSH-Px aktivitesi Paglia ve ark. (20)'nin metoduna göre çalışıldı. GSH-Px hidrojen peroksit varlığında redukte 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 absorban azalmasının 340 nm'de okunmasıyla hesaplandı ve ünite/gram (U/g) doku proteini şeklinde belirtildi.

MDA tayini: Lipid peroksidasyon ölçüm metodu olan Esterbauer metodu uygulanarak yapıldı (21). Tiyobarbutirik asit ile 90-95°C'de reaksiyona giren malondialdehit, pembe renkli kromojen oluşturmaktadır. On beş dakika sonra hızla soğutulan numunelerin absorbanları 532 nm'de spektrofotometrik olarak okundu. Sonuçlar nmol/g doku proteini olarak ifade edildi.

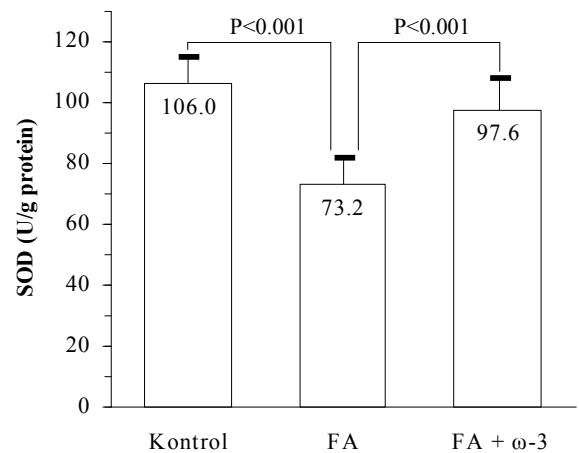
Doku protein tayini: Doku örneklerine ait homojenatlardaki protein düzeyi Lowry ve ark. (22)'nin belirlemiş olduğu yöntemle gerçekleştirildi.

İstatistiksel analiz: Biyokimyasal parametre sonuçlarının (SOD, GSH-Px ve MDA) analizi için "SPSS 11.0 for Windows" istatistik programı kullanıldı. Grupların dağılımları, non-parametrik testlerden one-sample Kolmogorov-Smirnov Test ile değerlendirildi. Gruplar normal dağılım gösterdiğinden değerlerin karşılaştırılmasında parametrik testlerden one-way ANOVA ve Post Hoc testlerden LSD kullanıldı. İstatistiksel anlamlılık için p<0.05 olan değerler anlamlı kabul edildi.

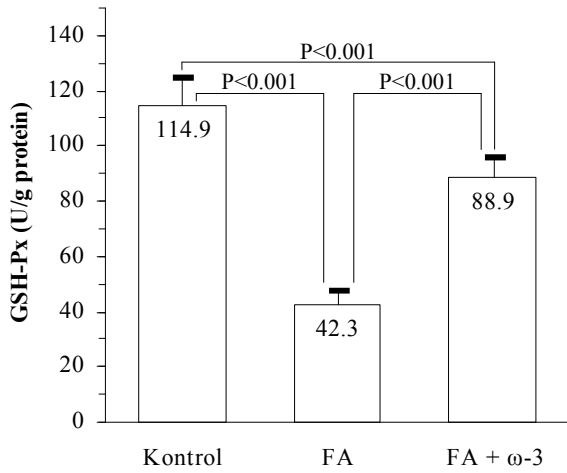
BULGULAR

Sıçanlar üzerinde gerçekleştirmiş olduğumuz bu çalışmada, antioksidan savunma sisteminin enzimlerinden olan SOD ve GSH-Px aktiviteleri spektrofotometrik olarak belirlendi. Bunun yanı sıra, lipid peroksidasyonu sonucu oluşan ve oksidatif hasarın ortaya konulmasında önemli bir parametre olarak kullanılan MDA düzeyleri de yine aynı yöntemle ölçüldü.

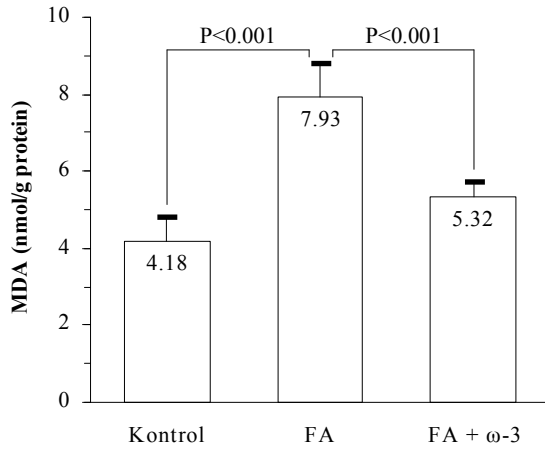
Sistemik olarak formaldehite maruz kalan sıçanlarda, testis dokusuna ait SOD ve GSH-Px aktiviteleri kontrol grubuna ait değerler ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azalmış olduğu tespit edildi (p<0.05). Diğer taraftan, formaldehit enjeksiyonu sonucu testis MDA seviyelerinin ise yine kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde arttığı görüldü (p<0.05). Formaldehit maruziyetinin yanı sıra omega-3 yağ asitleri verilen hayvanlara ait biyokimyasal değerler incelendiğinde ise, testiküler SOD ve GSH-Px değerlerinin yükseldiği, MDA seviyelerinin de düştüğü belirlendi (p<0.05) (Şekil 1-3).



Şekil 1. Formaldehitin (FA) antioksidatif savunma sistemlerini olumsuz etkilediği, omega-3 yağ asitlerinin (ω -3) ise bu olumsuz etkiyi ortadan kaldırdığını gösteren testis dokusu süperoksit dismutaz (SOD) enzim aktivasyon değerleri.



Şekil 2. GSH-Px'in testis dokusundaki aktivasyonu formaldehit (FA) toksisitesinde önemli ölçüde düşerken, omega-3 yağ asitleri (ω-3) uygulanmış sıçanlarda ise kontrol seviyeleri kadar olmasa da yüksek aktivasyon değerlerinde bulunmaktadır.



Şekil 3. Formaldehit (FA), sıçan testis dokusunda lipid peroksidasyonun göstergesi olan malondialdehit (MDA) düzeylerinde artışa yol açmakta, omega-3 yağ asitleri (ω-3) ise güçlü antioksidatif etkisi ile bu artışı önleyerek kontrol seviyelerinde tutmaktadır.

TARTIŞMA

Formaldehit nonenzimatik yolla protein, DNA, RNA ve doymamış yağ asitleri ile güçlü bir şekilde birleşme eğilimindedir. Bu birleşme, allerjik reaksiyon, sitotoksite, genotoksite, mutajenik ve kanserojenik etkilerin görülmesine neden olmaktadır (1,2).

Formaldehit toksisitesinden etkilenen sistemlerden biride üreme sistemidir. Her iki cinstede fertilité problemlerine yol açtığı belirlenen formaldehitin germinal hücrelere zarar verdiği ortaya konmuştur (8). Teratojenik karaktere sahip olan formaldehitin kadınlarda menstruel fonksiyonları bozduğu ve spontan düşüklere neden olduğu bildirilmiştir (23,24). Yine deneysel olarak yapılan çalışmalarda, formaldehitin erkek üreme sistemi üzerindeki olumsuz etkileri de ortaya konmuştur. Formaldehit maruziyetinin testis morfolojik yapısında değişik-

liklere neden olduğu ve kan testosteron düzeylerini düşürdüğü belirtilmiştir (9-11,25-27).

Vücutta meydana gelen fizyolojik işlevler sırasında ya da patolojik bir süreç içerisinde ortaya çıkan serbest radikaller ile antioksidan sistem arasındaki dengenin serbest radikaller tarafına kayması sonucu oksidatif hasar ortaya çıkar. Organizma oksidatif hasara karşı kendini enzimatik ve non-enzimatik antioksidan sistem ve moleküllerle korur. SOD ve GSH-Px hücre düzeyinde etkili olan antioksidan enzimlerdendir (28).

Biyokimyasal düzeyde yapmış olduğumuz bu çalışmada da, testis dokusundaki antioksidan savunma sisteminin formaldehit maruziyeti sonucu bozulduğu gösterilmiştir. Bir başka ifadeyle, formaldehit enjeksiyonu yapılan sıçanlarda testis SOD ve GSH-Px enzim aktivasyonlarının azaldığı tespit edilmiştir. Ayrıca çalışmamızda, formaldehit uygulamasının testis MDA seviyelerinde artışa neden olduğu da ortaya konmuştur. MDA düzeyindeki bu artış ise, formaldehit enjeksiyonunun testislerde oksidatif hasara yol açtığını ifade etmektedir.

Benzer şekilde, daha önce sıçanlar ve fareler üzerinde gerçekleştirilmiş araştırmalarda da formaldehit maruziyetinin testis SOD ve GSH-Px değerlerinde azalmaya, MDA seviyelerinde ise artışa neden olduğu belirtilmiştir (25,26). Bunun yanı sıra, formaldehitin diğer dokularda da oksidatif hasara yol açtığı yapılan çalışmalarda bildirilmiştir (6,17,18).

Balık yağında bol miktarda bulunan omega-3 yağ asitlerinin (DHA, EPA ve ALA), antiinflamatuvar ve antihipertansif özelliklere sahip olduğu ve bu nedenle organizma için koruyucu olduğu ifade edilmiştir (15,16,29). Daha önce yapılmış olan deneysel çalışmalarda, omega-3 yağ asitlerinin oksidatif hasara karşı da koruyucu etkilerinin olduğu bildirilmiştir (29). Lonergan ve ark. (30) sıçanlar üzerinde yapmış oldukları çalışmalarında, gama radyasyon maruziyeti ile hipokampusta oluşan nöronal hasar üzerine EPA'nın koruyucu etki gösterdiğini bildirmişlerdir. Yine, Martin ve ark. (31) radyasyon ve yaşlılığa bağlı olarak beyinde meydana gelen apoptotik değişiklikler üzerine EPA'nın düzeltici etkisinin olduğunu göstermişlerdir. Benzer şekilde biz de daha önce yapmış olduğumuz araştırmalarda, formaldehit maruziyetine bağlı olarak prefrontal korteks, akciğer ve böbreklerde oluşan oksidatif hasarın omega-3 yağ asitleri tarafından önlendiğini ortaya koyduk (6,17,18).

Organizmaya ait biyomembranlar ve hücre içi organeller; membran fosfolipitlerindeki PUFA (çoklu doymamış yağ asitleri) varlığı nedeniyle oksidatif ataklara duyarlıdır. PUFA, hücre fonksiyonunun yapılabilmesi ve özellikle hücre membranı, endoplazmik retikulum ve mitokondri gibi hayati öneme sahip organeller için gereklidir. Omega-3 yağ asitleri olarak bilinen DHA ve EPA da PUFA üyelerinden olan yağ asitleridir. Bu nedenle; omega-3 yağ asitlerinin, oksidatif süreç içerisinde giren dokudaki azalmaya yüz tutmuş PUFA yerine geçmek suretiyle koruyucu etkisini gösterdiği ileri sürülmüştür (32-34).

Yapmış olduğumuz bu çalışmada da, formaldehit maruziyetiyle birlikte omega-3 yağ asitleri verilen sıçanlarda, testis SOD ve GSH-Px enzim değerlerinin arttığı, MDA düzeylerinin ise azaldığı tespit edilmiştir. Sonuç olarak, biyokimyasal düzeyde elde etmiş olduğumuz bu veriler, formaldehit uygulaması sonucu testislerde oluşan oksidatif doku hasarının omega-3 yağ asitleri tarafından önlendiğini ortaya koymuştur.

KAYNAKLAR

1. Smith AE. Formaldehyde. *Occup Med* 1992; 42: 83-88.
2. Usanmaz SE, Akarsu ES, Vural N. Neurotoxic effects of acute and subacute formaldehyde exposures in mice. *Envir Toxicol Pharmacol* 2002; 11: 93-100.
3. Monteiro Riviere NA, Popp JA. Ultrastructural evaluation of acute nasal toxicity in the rat respiratory epithelium in response to formaldehyde gas. *Fundam Appl Toxicol* 1986; 6: 251-262.
4. Morgan KT, Patterson DL, Gross EA. Responses of the nasal mucociliary apparatus of F-344 rats to formaldehyde gas. *Toxicol Appl Pharmacol* 1986; 82: 1-13.
5. Kilburn KH, Warshaw R, Thornton JC. Formaldehyde impairs memory, equilibrium, and dexterity in histology technicians: effects which persist for days after exposure. *Arch Environ Health* 1987; 42: 117-120.
6. Zararsiz I, Kus I, Akpolat N, et al. Protective effects of omega-3 essential fatty acids against formaldehyde-induced neuronal damage in prefrontal cortex of rats. *Cell Biochem Funct* 2006; 24: 237-244.
7. Songur A, Akpolat N, Kus I, et al. 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.
8. Thrasher JD, Kilburn KH. Embryo toxicity and teratogenicity of formaldehyde. *Archives of Environmental Health* 2001; 56: 300-311.
9. Chowdhury AR, Gautam AK, Patel KG, Trivedi HS. Steroidogenic inhibition in testicular tissue of formaldehyde exposed rats. *Indian J Physiol Pharmacol* 1992; 36: 162-168.
10. Sarsılmaz M, Özen OA, Akpolat N, Kuş İ, Songur A. Subakut dönemde solunan formaldehitin sıçanların Leydig hücreleri üzerindeki histopatolojik etkileri. *Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi* 1999; 13: 37-40.
11. Ozen OA, Akpolat N, Songur A, et al. Effect of formaldehyde inhalation on Hsp70 in seminiferous tubules of rat testes: an immunohistochemical study. *Toxicol Ind Health* 2005; 21: 249-254.
12. Nordoy A. Is there a rational use for n-3 fatty acids (fish oils) in clinical medicine? *Drugs* 1991; 42: 331-342.
13. Bourre JM, Bonneil M, Chaudiere J, et al. Structural and functional importance of dietary polyunsaturated fatty acids in the nervous system. *Adv Exp Med Bio* 1992; 318: 211-229.
14. Masters C. Omega-3 fatty acids and the peroxisome. *Mol Cell Biochem* 1996; 165: 83-93.
15. Stone NJ. Fish consumption, fish oil, lipids and coronary heart disease. *Am J Clin Nutr* 1997; 65: 1083-1086.
16. Miyasaka CK, Alves de Souza JA, Torres RP, et al. Effects of the administration of fish oil by gavage on activities of antioxidant enzymes of rat lymphoid organs. *Gen Pharmacol* 1998; 30: 759-762.
17. Zararsız İ, Sönmez MF, Yılmaz HR, ve ark. Sıçanlarda formaldehit uygulamasıyla akciğerlerde oluşan hasar üzerine omega-3 yağ asitlerinin koruyucu etkisi. *Selçuk Tıp Dergisi* 2004; 20: 93-98.
18. Zararsiz I, Sonmez MF, Yılmaz HR, et al. Effects of ω -3 essential fatty acids against formaldehyde-induced nephropathy in rats. *Toxicol Ind Health* 2006; 22: 223-229.
19. Sun Y, Oberley LW, Li Y. A simple method for clinical assay of superoxide dismutase. *Clin Chem* 1988; 34: 497-500.
20. Paglia DE, Valentine WN. Studies on the quantitative and qualitative characterisation of erythrocyte glutathione peroxidase. *J Lab Clin Med* 1967; 70: 158-169.
21. Esterbauer H, Cheeseman KH. Determination of aldehydic lipid peroxidation products: malonaldehyde and 4-hydroxynonenal. *Methods Enzymol* 1990; 186: 407-421.
22. Lowry O, Rosenbraugh N, Farr L, Rondall R. Protein measurement with the Folin-phenol reagent. *J Biol Chem* 1951; 183: 265-275.
23. Halperin WE, Goodman M, Stayner L, et al. Nasal cancer in a worker exposed to formaldehyde. *JAMA* 1983; 249: 510-516.
24. Taskinen H, Kyyronen P, Hemminki K, et al. Laboratory work and pregnancy outcome. *J Occup Med* 1994; 36: 311-319.
25. Zhou DX, Qui SD, Zhang J, Tian H, Wang HX. The protective effect of vitamin E against oxidative damage caused by formaldehyde in the testes of adult rats. *Asian J Androl* 2006; 8: 584-588.
26. Tang M, Xie Y, Yi Y, Wang W. Effects of formaldehyde on germ cells of male mice. *Wei Sheng Yan Jiu* 2003; 32: 544-548.
27. Majumder PK, Kumar VL. Inhibitory effects of formaldehyde on the reproductive system of male rats. *Indian J Physiol Pharmacol* 1995; 39: 80-82.
28. Akyol Ö. Beyin tümörlerinde doku SOD, CAT ve GSH-Px aktiviteleri. Uzmanlık tezi, Ankara: Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Biyokimya Bölümü, Ankara 1994.
29. Sarsılmaz M, Songur A, Ozyurt H, et al. Potential role of dietary ω -3 essential fatty acids on some oxidant/antioxidant parameters in rats' corpus striatum. *Prostag Leukotr Ess* 2003; 69: 253-259.
30. 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.
31. Martin DS, Lonergan PE, Boland B, Fogarty MP, Brady M. Apoptotic changes in the aged brain are triggered by interleukin1-induced activation of p38 and reversed by treatment with eicosapentaenoic acid. *J Biol Chem* 2002; 277: 34239-34246.
32. Takezaki T, Inoue M, Kataoka H, et al. Diet and lung cancer risk from a 14-year population-based prospective study in Japan: with special reference to fish consumption. *Nutr Cancer* 2003; 45: 160-167.
33. Kamal KK, Goma A, El Khafif M, Hammad AS. Plasma lipid peroxides among workers exposed to silica or asbestos dust. *Environ Res* 1989; 49: 173-180.
34. Halliwell B. Free radicals, antioxidants and human disease; curiosity, course or consequence? *Lancet* 1994; 344: 721-724.

Kabul Tarihi:21.07.2007