

**SIÇAN PREFRONTAL KORTEKSİNDE FORMALDEHİT
MARUZİYETİYLE OLUŞAN OKSİDATİF HASARA KARŞI MELATONİN
HORMONUNUN KORUYUCU ETKİSİ**

**The Protective Effects of Melatonin Hormone Against Exposure of
Formaldehyde-Induced Oxidative Damage in Prefrontal Cortex of Rats**

**İlter KUŞ¹, İsmail ZARARSIZ², H.Ramazan YILMAZ³,
Aslı ÖZDEM TÜRKOĞLU⁴, Hıdır PEKMEZ⁴, Mustafa SARSILMAZ⁵**

Özet : Bu çalışmada, formaldehitin prefrontal korteks üzerine olan nörotoksik etkileri ve bu toksik etkilere karşı melatonin hormonunun koruyucu etkisi biyokimyasal düzeyde araştırıldı. Bu amaçla, 21 adet Wistar-Albino cinsi erkek sıçan üç gruba ayrıldı. Grup I'deki sıçanlar kontrol olarak kullanıldı. Grup II'deki sıçanlara gün aşırı % 10'luk formaldehit intraperitoneal olarak enjekte edildi. Grup III'deki sıçanlara ise, formaldehit enjeksiyonu ile birlikte günlük olarak 25 mg/kg dozunda melatonin uygulandı. Ondört günlük deney süresi sonunda bütün sıçanlar dekapitasyon yöntemi ile öldürüldü. Daha sonra sıçanların beyinleri çıkartılarak, prefrontal korteks örneklerinde süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GSH-Px) ve malondialdehit (MDA) enzim aktiviteleri spektrofotometrik olarak belirlendi. Formaldehit uygulanan sıçanlarda SOD ve GSH-Px değerlerinin kontrol grubuna göre anlamlı bir şekilde azaldığı, MDA düzeylerinin ise yine istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde arttığı tespit edildi. Formaldehit maruziyeti ile birlikte melatonin enjekte edilen sıçanlarda, SOD ve GSH-Px enzim aktivitelerinde bir artış olurken, MDA değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir düşüş olduğu görüldü. Sıçanlarda, formaldehit maruziyeti sonucu prefrontal kortekste oksidatif hasarın oluştuğu ve bu hasarın melatonin uygulaması ile önlendiği tespit edildi.

Anahtar kelimeler: Formaldehit, melatonin, süperoksit dismutaz, glutatyon peroksidaz, malondialdehit.

Summary : In this study, neurotoxic effects of formaldehyde on prefrontal cortex and protective effects of melatonin hormone against these toxic effects were investigated at biochemical level. For this purpose, 21 adult male Wistar rats were divided into three groups. Rats in group I were used as control. Rats in group II were injected every other day with 10 % formaldehyde. Rats in group III were daily administered melatonin with (25 mg/kg) injection of formaldehyde. At the end of fourteen-days experimental period, all rats were killed by decapitation. Then the brains of rats were removed. The activities of superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GSH-Px) and malondialdehyde (MDA) were determined in the prefrontal cortex specimens by using spectrophotometric methods. The levels of SOD and GSH-Px were significantly decreased, and MDA levels were significantly increased in rats treated with formaldehyde compared to control. It was seen that increase of SOD and GSH-Px enzyme activities, and decrease of MDA levels in rats administered melatonin with exposure of formaldehyde. It was determined that exposure of formaldehyde caused oxidative damage in prefrontal cortex of rats and this damage was prevented by administration of melatonin.

Key words: Formaldehyde, melatonin, superoxide dismutase, glutathione peroxidase, malondialdehyde

¹ Yrd.Doç.Dr.Fırat Ün.Tıp Fak.Anatomi AD, Elazığ

² Uzm.Dr.Fırat Ün.Tıp Fak.Anatomi AD, Elazığ

³ Yrd.Doç.Dr.Süleyman Dem.Ün.Tıp Fak.Tıb.Biy.AD,Isparta

⁴ Araş.Gör.Fırat Ün.Tıp Fak.Anatomi AD, Elazığ

⁵ Prof.Dr.Fırat Ün.Tıp Fak.Anatomi AD, Elazığ

Prefrontal korteks, gyrus frontalis superior, gyrus frontalis medius ve gyrus frontalis inferior'un büyük bir kısmı ile gyri orbitales ve gyrus cinguli'nin ön yarısını kapsar. Brodmann'ın 9. 10. 11. ve 12. alanlarını içine alacak şekilde premotor

alanın önünde bulunur (1, 2). Prefrontal korteks, öğrenme, hafıza, dikkatin sürdürülmesi, bilgilerin analizi ve düşüncelerin olgunlaştırılması gibi kognitif fonksiyonlardan sorumludur. Ayrıca geleceği tahmin etme, motor hareketlerin uygulanmadan sonucunun kestirilmesi, karmaşık soyut problemlerin çözülmesi ve davranışların toplumsal kurallara göre denetlenmesi gibi işlevlerde de görev alır. Bu nedenle prefrontal korteks'te meydana gelebilecek bir hasar, belirtilen fonksiyonlarda bozuklukların oluşmasına yol açacaktır (3-5).

Formaldehit (FA) kimyasal özellikleri nedeniyle çok yaygın olarak kullanılan, organizmanın doğal yapısında da yer alan kimyasal bir maddedir. Kimyasal formülü CH_2O olup, renksiz, keskin kokulu ve suda çok iyi çözünen bir aldehidtir. Kuvvetli elektrofilik özelliği nedeniyle oldukça reaktif bir maddedir ve bulunduğu her ortamdan oda sıcaklığında gaz haline geçebilir (6). FA vücuda alındıktan sonra karaciğerde ve eritrositlerde formaldehit dehidrogenaz enzimi (FDH) katalizörliğünde formik asite metabolize olur. FDH enzimi bu reaksiyonu gerçekleştirirken kofaktör olarak glutatyonu ihtiyaç duyar. Vücutta depo edilmeyen FA, ya formik asite dönüşerek idrar ve feçes yoluyla ya da karbondioksit okside olarak solunum yoluyla atılır (7).

Düşük dozlarda duyuusal irritasyona neden olan formaldehit, yüksek konsantrasyonlarda salivasyon, dispne, konvülsiyon ve ölüme neden olmaktadır. Akut etkilenmelerde baş ağrısı, baş dönmesi, keyifsizlik, uykusuzluk ve iştahsızlık görülürken, uzun süreli maruziyette ise, davranış bozuklukları, epilepsi gibi kalıcı nörotoksikite belirtileri ortaya çıkar (8-10). FA'nın nörotoksik etkileri daha önce yapılan deneysel çalışmalarda da ortaya konmuştur. Sistemik olarak FA uygulanan siçanlarda davranış bozuklukları, ruhsal dengesizlik ve öğrenme ile ilgili testlerde bozukluklar görülmüştür (11).

Melatonin pineal bez tarafından sirkadiyan ritimde ve karanlıkta salgılanan bir hormondur. Vücutta endokrin sistemin düzenlenmesi, immun fonksiyonun arttırılması, düz kas tonusunun

ayarlanması ve gonadal fonksiyonların baskılanması gibi bir çok fizyolojik işlevlerde görev alır (12-17). Ayrıca son yıllarda yapılan çalışmalarda, melatonin hormonunun güçlü bir antioksidan olduğu (18-21) ve dokularda lipid peroksidasyon sonucu oluşan oksidatif hasarı önlediği bildirilmiştir (22-24). Melatonin hem yağda hem de suda çözünebilir özelliğe sahip olduğu için, nükleus dahil hücrenin her organeline ulaşabilir. Bu özellik, DNA'nın oksidatif hasara karşı korunmasında, melatonine bir üstünlük sağlamaktadır (12, 13). Bunun yanı sıra, kan-beyin bariyerini kolaylıkla geçebilen, dolayısıyla beyin dokularında da antioksidan özelliği gösteren bir hormondur (25, 26).

Bu çalışmada, sistemik olarak uygulanan formaldehitin kognitif fonksiyonlardan sorumlu olan prefrontal korteks üzerindeki nörotoksik etkileri ve bu toksik etkilere karşı melatonin hormonunun koruyucu etkisi biyokimyasal düzeyde araştırılmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmamızda 310-320 gr ağırlığında toplam 21 adet Wistar-Albino cinsi erkek siçan kullanıldı. Hayvanlar üç gruba ayrıldı. Grup I (n=7)'deki kontrol siçanlara gün aşırı olarak ve intraperitoneal (i.p) yolla sadece serum fizyolojik enjekte edildi. Grup II (n=7)'deki siçanlara ise, yine gün aşırı olarak ve serum fizyolojik ile 1/10 oranında sulandırılmış 10 mg/kg dozundaki formaldehit i.p olarak uygulandı. Grup III (n=7)'deki siçanlara da gün aşırı olarak uygulanan FA'nın yanı sıra, serum fizyolojik ile 1/10 oranında sulandırılmış 25 mg/kg dozundaki melatonin (Sigma Chemical Co.) yine intraperitoneal yolla günlük olarak enjekte edildi. Ayrıca bütün siçanlar endojen melatonin sekresyonunun düzenli olması için uygulamalar boyunca 12 saat ışık – 12 saat karanlık periyodunda tutuldu. Ondört günlük deney süresi sonunda dekapitasyon yöntemiyle öldürülen siçanların beyinleri hızla çıkartılarak prefrontal korteks 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 5000xg'de 1

saat (+4°C'de) santrifüjlenerek süpernatant elde edildi ve analiz zamanına kadar (1 hafta) -40°C'de bekletildi. Süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GSH-Px) ve malondialdehit (MDA) aktiviteleri süpernatantta spektrofotometrik olarak tayin edildi.

SOD tayini: Süperoksit dismutaz enzim değerleri Sun ve ark. (27)'nin 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/miligram (U/mg) doku proteini olarak ifade edildi.

GSH-Px tayini: Glutatyon peroksidaz aktivitesi Paglia ve ark. (28)'nin 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'nin NADP⁺'ya yükseltgenmesi sırasındaki absorbans 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 (29). Tiyobarbitirik asit ile 90-95 °C'de reaksiyona

giren malondialdehit, pembe renkli kromojen oluşturmaktadır. On beş dakika sonra hızla soğutulan numunelerin absorbansları 532 nm'de spektrofotometrik olarak okundu. Sonuçlar nmol/g doku proteini olarak ifade edildi.

İstatistiksel analiz: Biyokimyasal parametre sonuçlarının (SOD, GSH-Px, MDA) analizi için "SPSS 9.05 for windows" istatistik programı kullanıldı. 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

Oksidatif antioksidan enzimler olan süperoksit dismutaz ve glutatyon peroksidaz değerlerinin formaldehit uygulanan sıçanlarda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azaldığı görüldü (p<0.05). Ayrıca oksidatif hasarı belirlemede önemli bir parametre olarak alınan ve dokuda lipid peroksidasyonun bir göstergesi olan malondialdehit düzeylerinin de, FA uygulanan grupta yine istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde arttığı tespit edildi (p<0.05). Formaldehit maruziyeti ile birlikte melatonin uygulanan sıçanlarda ise, süperoksit dismutaz ve glutatyon peroksidaz enzim düzeylerinin arttığı, malondialdehit seviyelerinin de azaldığı görüldü (Tablo I).

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

Gruplar	n	SOD (U/mg protein)	GSH-Px (U/g protein)	MDA (nmol/g protein)
Kontrol	7	0.249 ± 0.03	239 ± 19	11.2 ± 0.8
FA	7	0.138 ± 0.03*	53 ± 2*	17.9 ± 0.9*
FA+Melatonin	7	0.253 ± 0.02**	168 ± 11**	11.6 ± 0.5**

* : p<0.05 (Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında)

** : p<0.05 (FA grubu ile karşılaştırıldığında)

n: denek sayısı.

Değerler ortalama ± SS şeklinde verildi.

TARTIŞMA

Müköz membranlarda irritasyona yol açan formaldehitin solunum yolları (akciğer, burun), gastrointestinal sistem, göz, deri, testis ve menstrüel fonksiyonlar üzerinde toksik etkilere sahip olduğu bildirilmiştir (30-33). FA nonenzimatik yolla protein, DNA, RNA ve doymamış yağ asitleri ile güçlü bir şekilde birleşme eğilimindedir. Bu birleşme, allerjik reaksiyon, sitotoksiste, genotoksiste, mutajenik ve kanserojenik etkilerin görülmesine neden olmaktadır (6, 7).

Merkezi sinir sistemi formaldehitten etkilenen en önemli sistemlerden biridir. Histoloji, patoloji ve kadavra tahniti teknisyenleri, diseksiyon yapan öğrenciler ve diyaliz ünitesinde çalışan hemşirelerde mesleki olarak FA'dan etkilenmektedirler. Bu etkilenme sonucu halsizlik, baş ağrısı, hazımsızlık, denge ve uyku bozukluğu ile ruhsal durum ve hafıza bozukluklarının görüldüğü ifade edilmiştir (8, 30, 34). Ayrıca FA'nın kullanıldığı endüstriyel alanda çalışan kişilerde, aşırı yorgunluk ve susuzluk hissi, irritabilite, letarji, davranış ve duygu-durum bozukluğu gibi semptomların olması nörotoksitesi düşündürmektedir (8, 9).

Organizmada normal fizyolojik şartlarda veya herhangi bir patolojik olay sonucunda oluşan serbest radikaller ile bunların koruyucusu olan antioksidan savunma sistemi arasındaki dengenin serbest radikaller lehine kayması oksidatif stresi gösterir. Canlılar oksidatif hasara karşı enzimatik ve nonenzimatik antioksidan sistem ve moleküllerle korunur. Hücre seviyesinde etkili olan enzimatik antioksidan sistemler içerisinde süperoksit dismutaz ve glutatyon peroksidaz yer alır (35).

Teng ve ark. (36) izole sıçan hepatositlerinde yaptıkları deneysel çalışmada, FA'nın düşük konsantrasyonlarının bile oksidatif hasara yol açtığını bildirmişlerdir. Biz de yapmış olduğumuz bu çalışmada, FA'ya maruz kalmış prefrontal korteks doku örneklerinde SOD ve GSH-Px aktivitelerinin istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azaldığını tespit ettik. SOD ve GSH-Px

enzimlerdeki bu azalma, FA'nın prefrontal kortekste antioksidan defans mekanizmasını bozarak oksidatif hasara neden olduğunu göstermektedir.

MDA lipid peroksidasyonu sonucu oluşan ürünlerden biridir ve oksidatif hasarı göstermede yaygın olarak kullanılan bir parametredir (37). Çalışmamızda da, formaldehit uygulanan grupta MDA düzeylerinin kontrol grubuna göre anlamlı bir şekilde arttığı görülmüştür. MDA düzeyindeki bu artış, FA'nın prefrontal kortekste lipid peroksidasyonuna ve doğal olarak oksidatif hasara yol açtığını ortaya koymuştur. Benzer şekilde, Teng ve arkadaşları da sıçanlar üzerinde yaptıkları çalışmalarında FA uygulamasının lipid peroksidasyona neden olduğunu bildirmişlerdir (36).

Pineal bez tarafından salgılanan melatonin vücutta bir çok fizyolojik fonksiyonların düzenlenmesinde görev alır. Ayrıca güçlü bir antioksidan olduğu (18-21) ve dokularda lipid peroksidasyon sonucu oluşan oksidatif hasarı önlediği bildirilmiştir (22-24). Melatonin güçlü antioksidan etkisinin yanı sıra, süperoksit dismutaz, glutatyon peroksidaz ve glutatyon redüktaz gibi antioksidan enzimlerin aktivitesini de stimüle eder (25).

Sinir sistemine ait dokular üzerinde yapılan araştırmalarda da melatoninin antioksidan özelliği vurgulanmış ve melatonin hormonunun oksidatif strese bağlı olarak oluşan nöronal hasara karşı koruyucu etkisinin olduğu bildirilmiştir (25, 26, 38-42). Kabuto ve ark. (38) sıçanlar üzerinde yapmış oldukları in vitro çalışmalarında, beyin korteksinde demirle indüklenmiş oksidatif hasarın melatonin uygulaması ile engellendiğini tespit etmişlerdir. Benzer şekilde Tan ve ark. (39), sıçan hipokampusünde siyanik asitle oluşturulmuş nöronal hasara karşı melatoninin koruyucu etki gösterdiğini bildirmişlerdir. Mason ve ark. (40) ise, sıçanlarda yaptıkları çalışmalarında, cerebellum granulosa hücrelerinde oksidatif strese bağlı olarak oluşan apoptozisin melatonin uygulaması ile inhibe olduğunu ifade etmişlerdir. Skaper ve ark. (26) da, yaşlanmaya bağlı olarak meydana gelen nöronal hasarın melatonin ile engellendiğini

göstermişlerdir. Yine sıçanlar üzerinde deneysel olarak yapılan başka bir araştırmada, beyin korteksinde gama-radyasyona bağlı olarak gelişen MDA düzeylerindeki artışın, melatonin uygulaması ile azaldığını ve lipid peroksidasyonun engellendiği gösterilmiştir (42).

Yapmış olduğumuz bu çalışmada da, FA maruziyeti ile birlikte melatonin uygulanan sıçanlarda SOD ve GSH-Px enzim düzeylerinin arttığı, MDA seviyelerinin ise azaldığı görüldü. Bu bağlamda prefrontal kortekste formaldehit maruziyetine bağlı olarak oluşan oksidatif hasarın melatonin tarafından önlediği sonucuna varıldı.

KAYNAKLAR

1. Arıncı K, Elhan A. *Anatomi (2.cilt). Güneş Kitabevi, Ankara 1995, ss: 388.*
2. Duncan J. *An adaptive coding model of neural function in prefrontal cortex. Nat Rev Neurosci 2001, 2: 820-829.*
3. Nyberg L, Marklund P, Persson J, et al. *Common prefrontal activations during working memory, episodic memory, and semantic memory. Neuropsychologia 2003, 41: 371-377.*
4. Ganong WF. *Tıbbi fizyoloji. Nobel Tıp Kitabevi, İstanbul 2002, ss: 249-268.*
5. Ranganath C, Johnson MK, D'Esposito M. *Prefrontal activity associated with working memory and episodic long-term memory. Neuropsychologia 2003, 41: 378-389.*
6. Smith AE. *Formaldehyde. Occup Med 1992, 42: 83-88.*
7. Usanmaz SE, Akarsu ES, Vural N. *Neurotoxic effects of acute and subacute formaldehyde exposures in mice. Envir Toxicol Pharmacol 2002, 11: 93-100.*
8. 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.*
9. Kilburn KH. *Neurobehavioral impairment and seizures from formaldehyde. Arch Environ Health 1994, 49: 37-44.*
10. Stroup NE, Blair A, Erikson GE. *Brain cancer and other causes of deaths in anatomists. J Natl Cancer Inst 1986, 77: 1217-1224.*
11. Pitten FA, Kramer A, Herrmann K, Bremer J, Koch S. *Formaldehyde neurotoxicity in animal experiments. Pathol Res Pract 2000, 196: 193-198.*
12. Arendt J. *Melatonin. Clin Endocrinol 1988, 29: 205-209.*
13. Kuş İ, Sarsılmaz M. *Pineal bezin morfolojik yapısı ve fonksiyonları. T Klin J Med Sci 2002, 22: 221-226.*
14. Forsling ML, Stoughton RP, Zhou Y, Kelestimur H, Demaine C. *The role of the pineal in the control of the daily patterns of neurohypophysial hormone secretion. J Pineal Res 1993, 14: 45-51.*
15. Kus I, Akpolat N, Ozen OA, Songur A, Kavakli A, Sarsılmaz M. *Effects of melatonin on Leydig cells in pinealectomized rat: an immunohistochemical study. Acta Histochem 2002, 104: 93-97.*
16. Guerrero JM, Reiter RJ. *A brief survey of pineal gland-immune system interrelationships. Endocr Res 1992, 18: 91-113.*
17. Ayar A, Kutlu S, Yılmaz B, Kelestimur H. *Melatonin inhibits spontaneous and oxytocin-induced contractions of rat myometrium in vitro. Neuroendocrinol Lett 2001, 22: 301-306.*

18. Tan DX, Chen LD, Poeffeler B, Manchester LC, Reiter RJ. Melatonin: a potent endogenous hydroxyl radical scavenger. *Endocrine J* 1993, 1: 57-60.
19. Pieri CP, Marra M, Morini F, Recchioni R, Marcheselli F. Melatonin: a peroxy radical scavenger more effective than vitamin E. *Life Sci* 1994, 55: 271-276.
20. Stastica P, Ulanski P, Rosiak JM. Melatonin as a hydroxyl radical scavenger. *J Pineal Res* 1998, 25: 65-66.
21. Zang LY, Cosma G, Gardner H, Vallyathan V. Scavenging of reactive oxygen species by melatonin. *Biochim Biophys Acta* 1998, 1425: 469-477.
22. Longoni B, Salgo MG, Pryor WA, Marchiafava PL. Effects of melatonin on lipid peroxidation induced by oxygen radicals. *Life Sci* 1998, 62: 853-859.
23. Sewerynek E, Melchiorri DA, Chen L, Reiter RJ. Melatonin reduces both basal and bacterial lipopolysaccharide-induced lipid peroxidation in vitro. *Free Radic Biol Med* 1995, 19: 903-909.
24. Melchiorri D, Reiter RJ, Sewerynek E, Hara M, Chen L, Nistico G. Paraquat toxicity and oxidative damage. Reduction by melatonin. *Biochem Pharmacol* 1996, 51: 1095-1099.
25. Reiter RJ, Carneiro RC, Oh CS. Melatonin in relation to cellular antioxidative defense mechanisms. *Horm Metab Res* 1997, 29: 363-372.
26. Skaper SD, Floreani M, Ceccon M, Facci L, Giusti P. Excitotoxicity, oxidative stress, and the neuroprotective potential of melatonin. *Ann N Y Acad Sci* 1999, 890: 107-118.
27. Sun Y, Oberley LW, Li Y. A simple method for clinical assay of superoxide dismutase. *Clin Chem* 1988, 34: 497-500.
28. Paglia DE, Valentine WN. Studies on the quantitative and qualitative characterisation of erythrocyte glutathione peroxidase. *J Lab Clin Med* 1967, 70: 158-169.
29. Esterbauer H, Cheeseman KH. Determination of aldehydic lipid peroxidation products: malonaldehyde and 4-hydroxynonenal. *Methods Enzymol* 1990, 186: 407-421.
30. Kim H, Kim YD, Cho SH. Formaldehyde exposure levels and serum antibodies to formaldehyde- human serum albumin of Korean medical students. *Arch Environ Health* 1999, 54: 115-118.
31. Sarsılmaz M, Özen OA. Subkronik dönem boyunca formaldehit soluyan sıçanların leydig hücrelerindeki histopatolojik değişiklikler. *Fırat Tıp Dergisi* 2000, 2: 1-5.
32. Nilsson JA, Zheng X, Sundqvist K, et al. Toxicity of formaldehyde to human oral fibroblasts and epithelial cells: influences of culture conditions and role of thiol status. *J Dent Res* 1998, 77: 1896-1903.
33. Thrasher JD, Kilburn KH. Embryo toxicity and teratogenicity of formaldehyde. *Arch Environ Health* 2001, 56: 300-311.
34. Kuo H, Jian G, Chen C, Liu C, Lai J. White blood cell count as an indicator of formaldehyde exposure. *Bull Environ Contam Toxicol* 1997, 59: 261-267.
35. Akyol Ö. Beyin tümörlerinde doku SOD, CAT ve GSH-Px aktiviteleri. Uzmanlık tezi, Ankara Üni. Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı, Ankara 1994, ss: 12-18.
36. 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.

37. 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.
38. Kabuto H, Yokoi I, Ogawa N. Melatonin inhibits iron-induced epileptic discharges in rats by suppressing peroxidation. *Epilepsia* 1998, 39: 237-243.
39. Tan DX, Manchester LC, Reiter RJ, Qi W, Kim SJ, El-Sokkary GH. Melatonin protects hippocampal neurons in vivo against kainic acid-induced damage in mice. *J Neurosci Res* 1998, 54: 382-389.
40. Mason RP, Leeds PR, Jacob RF, et al. Inhibition of excessive neuronal apoptosis by the calcium antagonist amlodipine and antioxidants in cerebellar granule cells. *J Neurochem* 1999, 72: 1448-1456.
41. Kaptanoğlu E, Palaoglu S, Demirpence E, Akbiyik F, Solaroglu I, Kilinc A. Different responsiveness of central nervous system tissues to oxidative conditions and to the antioxidant effect of melatonin. *J Pineal Res* 2003, 34: 32-35.
42. Erol FS, Topsakal C, Ozveren MF, et al. Protective effects of melatonin and vitamin E in brain damage due to gamma radiation: an experimental study. *Neurosurg Rev* 2004, 27: 65-69.