

Deneyisel Formaldehit Zehirlenmesinde Omega-3 Yağ Asitlerinin Testislerdeki Antiapoptotik Etkileri: İmmunohistokimyasal Bir Çalışma

İlter KUŞ^{a1}, İsmail ZARARSIZ², Nusret AKPOLAT³, Murat ÖGETÜRK¹, Murat A. KUŞ⁴, Oğuz Aslan ÖZEN⁴, Mustafa SARSILMAZ¹

¹ Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Anatomi Anabilim Dalı, ELAZIĞ

² Mustafa Kemal Üniversitesi Tayfur Ata Sökmen Tıp Fakültesi, Anatomi Anabilim Dalı, HATAY

³ Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı, ELAZIĞ

⁴ Afyon Kocatepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Anatomi Anabilim Dalı, AFYON

ÖZET

Amaç: İmmunohistokimyasal düzeyde yapmış olduğumuz bu çalışmada, testiküler doku üzerindeki formaldehit toksisitesinin özellikle apoptozis yönüyle incelenmesi amaçlandı. Ayrıca, bu toksisiteye karşı omega-3 yağ asitlerinin muhtemel koruyucu etkileri de değerlendirildi.

Gereç ve Yöntem: Araştırmamızda kullanılan toplam 21 adet Wistar-Albino cinsi erkek sıçanlar üç eşit gruba ayrıldı. Grup I (n=7)'deki sıçanlar kontrol olarak kullanıldı. Grup II (n=7)'deki hayvanlara gün aşırı olarak ve de intraperitoneal yolla formaldehit enjekte edildi. Grup III (n=7)'deki sıçanlara ise formaldehit enjeksiyonu ile birlikte intragastrik gavaj yoluyla ve günlük olarak omega-3 yağ asiti (Marincap kapsül®) verildi. İki haftalık deney süresi sonunda bütün sıçanlar dekapite edilerek testisleri çıkartıldı. Mikroskobik incelemeler için, testis doku örnekleri rutin histolojik prosedürlerden geçirilerek parafine gömüldü. Elde edilen parafin bloklardan alınan kesitler apoptozis varlığının belirlenmesi amacıyla immunohistokimyasal olarak Bax proteini ile boyandı. Hücre sitoplazmalarında gözlenen immunohistokimyasal Bax boyanmasının şiddeti semikantitatif olarak derecelendirildi.

Bulgular: Kontrol grubu sıçanlarına ait testis doku kesitlerinde herhangi bir Bax boyanması gözlenmezken, formaldehite maruz kalan gruba ait doku preparatlarında şiddetli derecede immunohistokimyasal Bax boyanmasının olduğu tespit edildi. Formaldehit enjeksiyonu ile birlikte omega-3 yağ asitleri verilen sıçanlara ait testis doku kesitlerinde ise immunohistokimyasal Bax boyanmasının minimal derecede olduğu görüldü.

Sonuç: İmmunohistokimyasal olarak gerçekleştirilen bu çalışma bulgularına göre, omega-3 yağ asitleri formaldehitin testislerde neden olduğu apoptozisi önlemektedir. ©2008, Fırat Üniversitesi, Tıp Fakültesi

Anahtar kelimeler: Omega-3 Yağ Asitleri, Formaldehit, Testis, Apoptozis, İmmunohistokimya

ABSTRACT

Anti-Apoptotic Actions of Omega-3 Fatty Acids on Testes in Experimental Formaldehyde Intoxication: An Immunohistochemical Study

Objective: In this study, which we have performed immunohistochemically, it was aimed to investigate effects of formaldehyde toxicity on the testes, especially on apoptotic changes. Potential antioxidant effects of omega-3 fatty acids against these toxic effects were also evaluated.

Materials and Methods: A total of 21 adult male Wistar-albino rats used in our study 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 omega-3 fatty acids daily via intragastric gavage (Marincap capsule®) with injections of formaldehyde. At the end of two-week experimental period, all animals were killed by decapitation and their testes were removed. For light microscopic examination, tissue specimens were embedded in paraffin blocks following routine histological procedures. Section obtained from paraffin blocks stained with Bax protein immunohistochemically for the determination of apoptosis. The intensity of immunohistochemical Bax stain within cell cytoplasm was scored semi-quantitatively.

Results: it was found an intensive immunohistochemical Bax staining in tissue specimens of formaldehyde-exposed rats, while no staining was seen in tissue sections of control testes. On the other hand, immunohistochemical Bax staining was observed minimally in tissue sections of testes of rats administered with formaldehyde plus omega-3 fatty acids.

Conclusion: According to results of this study performed immunohistochemically, omega-3 fatty acids prevent apoptosis caused by formaldehyde in the testes. ©2008, Fırat University, Medical Faculty

Key words: Omega-3 Fatty Acids, Formaldehyde, Testis, Apoptosis, Immunohistochemistry

Kimyasal formülü CH₂O olan formaldehit birçok alanda yaygın olarak kullanılan bir aldehit türevidir. Oda sıcaklığında kolaylıkla gaz haline dönüşebilen bu madde, renksiz ve keskin

kokuludur. Kuvvetli bir elektrofilik özelliğe sahip olan formaldehit, organizmaya dışarıdan alındıktan sonra karaciğerde ve eritrositlerde formaldehit dehidrogenaz (FDH) katalizör-lüğünde formik asit'e metabolize olur. Vücut içerisinde depo

^a Yazışma Adresi: Dr. İlter Kuş, Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Anatomi Anabilim Dalı, 23119 ELAZIĞ
Tel: 0424 237 00 00 e-mail: ilterkus@hotmail.com

edilmeyen CH_2O , ya formik asit'e dönüşerek idrar ve feçes yoluyla ya da karbondioksit'e okside olarak solunumla atılır (1, 2).

Kanserojenik karakterde olduğu ortaya konulan CH_2O ; sinir sistemi, solunum sistemi ve sindirim sistemi gibi birçok sistem üzerinde zararlı etkiler göstermektedir. Formaldehit üretiminin gerçekleştirildiği veya kullanıldığı endüstriyel sahalardaki meslek grupları ile tıp laboratuvarlarında çalışan kişiler bu kimyasal maddenin olumsuz etkileri ile karşı karşıya kalmaktadırlar (1-7).

Üreme fonksiyonları üzerinde de olumsuz etkiler gösteren formaldehit'in, germ hücrelerine zarar verdiği ve fertilité problemlerine yol açtığı bildirilmiştir (8). Deneysel olarak yapılan araştırmalarda, CH_2O maruziyetinin testis histolojik yapısını bozduğu, sperm sayısı ve kan testosteron düzeylerini azalttığı ortaya konmuştur (9-11). Bunun yanı sıra, formaldehit uygulamasının testiküler dokuda apoptozise de neden olduğu ifade edilmiştir (12).

Omega-3 yağ asitleri olarak bilinen dokozaheksanoik asit (DHA), eikozapentaenoik asit (EPA) ve α -linolenik asit (ALA) hücre membranının yapısına katılan esansiyel yağ asitleridir ve hücrenin normal fonksiyonlarını sürdürbilmesi için gereklidirler. DHA ve EPA ise uzun zincirli çoklu doymamış yağ asitleri (PUFA) üyelerinden olup balık yağında bol miktarda bulunurlar (13-15). Daha önce yapılmış olan araştırmalarda, omega-3 yağ asitlerinin antioksidan, antiinflamatuar, antihipertansif ve antiapoptotik özelliklere sahip olduğu bildirilmiştir (6, 16-19).

Deneysel olarak gerçekleştirmiş olduğumuz bu çalışmada ise, testiküler doku üzerindeki formaldehit toksisitesi özellikle apoptozis yönüyle ve de immunohistokimyasal yöntemler kullanılarak incelenmiştir. Ayrıca çalışmamızda, formaldehit toksisitesine bağılı meydana gelen apoptotik değişikliklere karşı omega-3 yağ asitlerinin koruyucu etkisi de araştırılmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

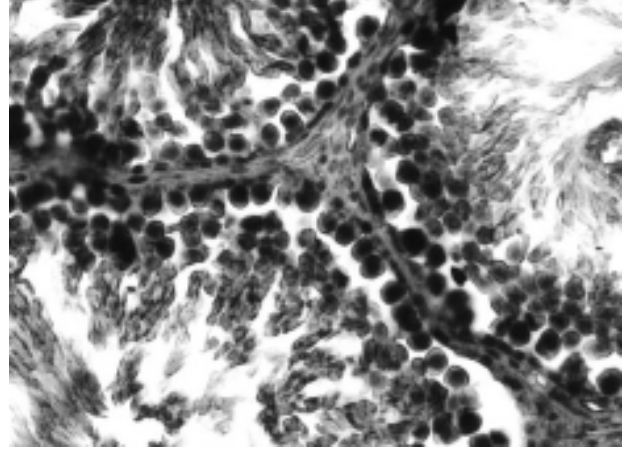
Çalışmamızda, Wistar-Albino cinsi toplam 21 adet ergin erkek sıçan kullanıldı. Hayvanlar üç eşit gruba ayrıldı. Kontrol grubu olarak düzenlenen hayvanlara (Grup I) gün aşırı olarak ve intraperitoneal (i.p) yolla sadece serum fizyolojik enjekte edildi. Grup II'ye ait olan sıçanlara ise, yine gün aşırı 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.

İki haftalık deney süresi sonunda bütün hayvanlar dekapitasyon yöntemiyle öldürüldü. Sıçanların testisleri çıkartılarak çevre dokulardan temizlendi. Mikroskopik incelemeler için, testis doku örnekleri rutin histolojik prosedürlerden geçirilerek parafine gömüldü. Elde edilen parafin bloklardan alınan 5 mm kalınlığındaki kesitler poly-L-lyesine ile kaplı lamrlar üzerine yerleştirildi. Daha sonra lamrlar immunohistokimyasal olarak boyandı. İmmunohistokimyasal boyama Avidin-biyotin-peroksidaz yöntemi (ABC Metodu) ile gerçekleştirildi. Primer antikor olarak Bax monoklonal IgG1 kullanıldı. Bu işlemlerden geçirilerek boyanan testis doku kesitleri Olympus BX50 araştırma mikroskobu ile değerlendirildi. İmmunohistokimyasal olarak hücre sitoplazmalarında gözlenen Bax boyanmasının şiddeti 0'dan +5'e kadar semi-kantitatif olarak derecelendirildi. (0: yok; +1: minimal; +2: az; +3: orta; +4: çok; +5: şiddetli).

BULGULAR

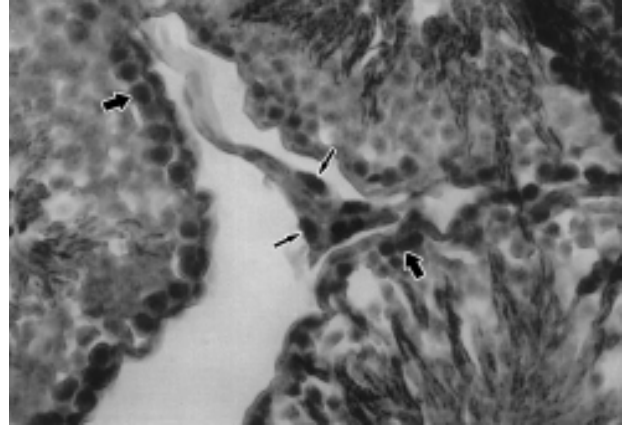
Bütün gruplara ait testis doku kesitlerinde gerçekleştirilen ve de apoptozisin varlığını ortaya koymak için yapılan immunohistokimyasal Bax boyamaları değerlendirildi.

Kontrol grubu sıçanlarına ait doku kesitleri incelendiğinde, gerek seminifer tubül duvarındaki spermatogenetik hücrelerde, gerekse Leydig hücrelerinde herhangi bir Bax boyanmasının olmadığı (0) görüldü (Şekil 1).



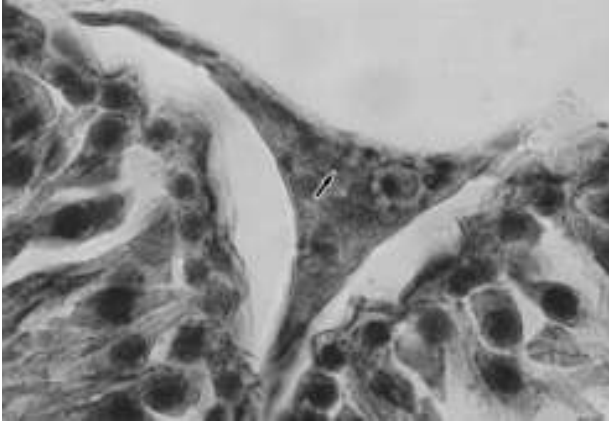
Şekil 1. Kontrol sıçanlarına ait testis doku kesitinin görünümü. Seminifer tubül duvarındaki spermatogenetik hücrelerde ve interstisyel alanda yer alan Leydig hücre sitoplazmalarında immunohistokimyasal Bax boyanmasının negatif olduğu dikkati çekmekte. X40.

Formaldehite maruz kalan hayvanlarda, hem spermatogenetik hem de Leydig hücre sitoplazmalarında gözlenen immuno-histokimyasal Bax boyanmasının şiddetli derecede (+5) olduğu belirlendi (Şekil 2).



Şekil 2 Formaldehit uygulanan gruba ait testis doku kesitleri incelendiğinde, hem seminifer tubül duvarındaki spermatogenetik hücre sitoplazmalarında (kalın ok) hem de Leydig hücre sitoplazmalarında (ince ok) şiddetli bir Bax boyanmasının olduğu göze çarpmakta. X20.

Formaldehit enjeksiyonu ile birlikte omega-3 yağ asitleri verilen grupta ise spermatogenetik hücrelerde immunohistokimyasal Bax boyanması gözlenmezken (0), sadece Leydig hücre sitoplazmalarında minimal derecede (+1) bir boyanmanın olduğu tespit edildi (Şekil 3).



Şekil 3. Formaldehit maruziyeti ile birlikte omega-3 yağ asitleri verilen gruba ait testis doku preparatının görünümü. Spermatogenetik hücrelerde immunohistokimyasal Bax boyanması gözlenmezken, Leydig hücre sitoplazmalarında (ok) minimal derecede bir boyanmanın olduğu görülmekte. X40.

Immunohistokimyasal olarak gerçekleştirmiş olduğumuz bu değerlendirmeler sonucunda, formaldehit enjeksiyonu sonucu testiküler dokuda meydana gelen apoptotik değişikliklerin omega-3 yağ asitleri tarafından baskılandığı ortaya kondu.

TARTIŞMA

DNA, RNA, doymamış yağ asitleri ve proteinler ile non-enzimatik olarak birleşme eğiliminde olan formaldehit mutajenik ve kanserojenik etkilere sahiptir. Deneysel olarak yapılan çalışmalarda, formaldehit'in sinir sistemi, solunum sistemi ve sindirim sistemi gibi birçok sistem üzerinde olumsuz etkilerinin olduğu bildirilmiştir. Alerjik ve hematolojik etkilere de sahip olan bu madde göz üzerinde de zararlı etkilerini göstermektedir (1-7).

Üreme sistemine ait organlar da formaldehit toksisitesinden etkilenmektedir. Her iki cinste de fertilitate 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 (20, 21). Yine deneysel olarak yapılan çalışmalarda, formaldehitin erkek üreme sistemi üzerindeki olumsuz etkileri de ortaya konmuştur. Formaldehit maruziyetinin testis morfolojik yapısında değişikliklere neden olduğu ve kan testosteron düzeylerini düşürdüğü belirtilmiştir (9-11,22-24). Ayrıca, formaldehit maruziyetinin testiküler dokuda apoptoze de yol açtığı ifade edilmiştir (12).

Apoptozis, birçok fizyolojik ve patolojik olaylarda meydana gelen programlanmış hücre ölümüdür. Apoptotik sürecin başlamasında hücre içi ve hücre dışı kökenli ölüm sinyalleri etkili olur. Bu uyarılara maruz kalan hücrede, ilgili genetik mekanizma harekete geçer ve apoptozis başlar. Metabolizma ve siklus bozuklukları, hiperkalsemi, pH değişiklikleri gibi etkilere hücre içinden kaynaklanan sinyallerdir. Hücre dışından gelen sinyaller ise, ultraviyole ışınları, hipoksi, ısı değişiklikleri, anti-kanser ilaçlar ve toksik maddelerdir (12, 25, 26).

Mitokondri apoptozis olayında önemli rol oynar. Mitokondriyal yol, sitotoksik ajanlar ve oksidatif baskı gibi çeşitli hücre içi ve hücre dışı etkiler sonucu aktive olur. Apoptotik sinyaller, mitokondriye ait iç ve dış membranlar

arasındaki boşluktan sitoplazmaya doğru sitokrom c salınmasına neden olur. Sitoplazmaya salınan sitokrom c, burada apaf-1'e (apoptotic protease activating factor 1) tutunur. Apaf-1'e tutunan sitokrom c sitoplazmada apoptozom oluşumuna neden olur. Meydana gelen apoptozomlar ise, kaspazları aktive eder. Sonuç olarak, kaspazların aktivasyonu da apoptoze yol açar (27).

Hücrelerdeki apoptotik sürecin kontrol edilmesinde mitokondriyal moleküller önemli bir rol üstlenir. Apoptozis sürecinde Bcl-2, Bax ve Bcl-X görev alan başlıca mitokondri molekülleridir. Bcl-2 ailesi pro-apoptotik (Bax, Bak, Bad, Bcl-XS) ve anti-apoptotik (Bcl-2, Bcl-XL) üyeleri içerir (26). Bu üyelerin mitokondrileri etkilemesi sonucu sitokrom c ya sitoplazmaya salınır (apoptozisin başlaması) ya da salınım baskılanır (apoptozisin inhibisyonu). Pro-apoptotik ve anti-apoptotik üyeler arasındaki denge sitokrom c salınmasında önemli bir role sahiptir.

Bcl-2, Bax'ın mitokondriyal membrana tutunmasını engelleyerek, sitoplazmaya olan sitokrom c salınımını inhibe eder ve apoptozis engellenir. Olayın bu şekilde gerçekleşmediği durumlarda ise, Bax mitokondriyal membrana tutunarak sitoplazmaya olan sitokrom c salınımını aktive eder ve apoptozis oluşur. Sonuç olarak, bir hücre sitoplazmasında immunohistokimyasal olarak Bax proteininin gösterilmesi o hücrede apoptozisin meydana geldiğini ortaya koyar (28-30).

Yapmış olduğumuz bu çalışmada da, CH₂O uygulaması sonucu hem seminifer tubül duvarındaki spermatogenetik hücrelerde hem de leydig hücrelerinde apoptozisin meydana geldiği immunohistokimyasal değerlendirme ile ortaya konmuştur. Spermatogenetik hücrelerde belirlemiş olduğumuz apoptozis, formaldehit toksisitesine bağlı olarak testislerde sperm üretiminin olumsuz yönde etkilendiğini işaret etmektedir. Leydig hücrelerinde gözlenen apoptotik değişiklikler ise testosteron üretiminin azalmış olabileceğini ifade etmektedir. Bu nedenle, elde etmiş olduğumuz bu mikroskobik bulgular daha önce yapılmış olan histolojik çalışmaların sonuçları ile uyum göstermektedir.

Balık yağında bol miktarda bulunan omega-3 yağ asitlerinin (DHA, EPA ve ALA), anti-inflamatuar ve antihipertansif özelliklere sahip olduğu ve bu nedenle organizma için koruyucu olduğu ifade edilmiştir (16, 17, 31). Daha önce yapılmış olan deneysel çalışmalarda, omega-3 yağ asitlerinin oksidatif hasara karşı da koruyucu etkilerinin olduğu bildirilmiştir (31).

Lonergan ve ark. (32) sıçanlar üzerinde yapmış oldukları çalışmalarında, gama radyasyon maruziyeti ile hipokampusta oluşan nöronal hasar üzerine EPA'nın koruyucu etki gösterdiğini bildirmişlerdir. Yine, Martin ve ark. (33) 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, 18, 19).

Organizmaya ait biyomembranlar ve hücre içi organeller; membran fosfolipitlerindeki PUFA (çoklu doymamış yağ asitleri) varlığı nedeniyle oksidatif ataklara duyarlıdır. PUFA, hücresel fonksiyonun 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 içerisine giren dokudaki azalmaya yüz tutmuş PUFA yerine geçmek suretiyle koruyucu etkisini gösterdiği ileri sürülmüştür (34-36).

Yapmış olduğumuz immunohistokimyasal değerlendirmelerde de, formaldehit maruziyeti sonucu spermatogenetik ve leydig hücrelerinde meydana gelen apoptozisin omega-3 yağ

asitleri tarafından baskılanmış olduğu tespit edilmiştir. Deneysel olarak gerçekleştirmiş olduğumuz bu çalışma sonucunda, formaldehit'in testiküler dokuda oksidatif hasara bağlı olarak apoptozise neden olduğu ve bu apoptotik değişikliklerin omega-3 yağ asitleri verilmesiyle önlendiği ortaya konmuştur.

KAYNAKLAR

- Smith AE. Formaldehide. *Occup Med* 1992; 42: 83-88.
- Usanmaz SE, Akarsu ES, Vural N. Neurotoxic effects of acute and subacute formaldehyde exposures in mice. *Envir Toxicol Pharmacol* 2002; 11: 93-100.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- Thrasher JD, Kilburn KH. Embryo toxicity and teratogenicity of formaldehyde. *Arch Env Health* 2001; 56: 300-311.
- 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.
- Sarsılmaz M, Özen OA, Akpolat N, Kuş İ, Songur A. Subakut dönemde solunan formaldehitin sıçanların Leydig hücreleri üzerindeki histopatolojik etkileri. *Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi* 1999; 13: 37-40.
- 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.
- Kuş MA. Sıçanlarda formaldehit maruziyetiyle testislerde oluşan morfolojik değişiklikler üzerine melatonin hormonunun koruyucu etkisi. Yüksek Lisans Tezi, Afyon: Afyon Kocatepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Anatomi Bölümü, Afyon 2007.
- Nordoy A. Is there a rational use for n-3 fatty acids (fish oils) in clinical medicine? *Drugs* 1991; 42: 331-342.
- Bourre JM, Bonnell 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.
- Masters C. Omega-3 fatty acids and the peroxisome. *Mol Cell Biochem* 1996; 165: 83-93.
- Stone NJ. Fish consumption, fish oil, lipids and coronary heart disease. *Am J Clin Nutr* 1997; 65: 1083-1086.
- 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.
- 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.
- Zararsiz I, Sonmez MF, Yilmaz HR, et al. Effects of ω -3 essential fatty acids against formaldehyde-induced nephropathy in rats. *Toxicol Ind Health* 2006; 22: 223-229.
- Halperin WE, Goodman M, Stayner L, et al. Nasal cancer in a worker exposed to formaldehyde. *JAMA* 1983; 249: 510-516.
- Taskinen H, Kyyronen P, Hemminki K, et al. Laboratory work and pregnancy outcome. *J Occup Med* 1994; 36: 311-319.
- 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.
- 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.
- Majumder PK, Kumar VL. Inhibitory effects of formaldehyde on the reproductive system of male rats. *Indian J Physiol Pharmacol* 1995; 39: 80-82.
- Öztürk F. Apoptoz. İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi 2002; 9: 143-148.
- Ergin M. Apoptosis. *Arşiv* 2002; 11: 495-504.
- Lawen A, Grutter MG. Caspases: key players in programmed cell death. *Curr Opin Struct Biol* 2000; 10: 649-655.
- Deveraux QL, Schendel SL, Reed JC. Antiapoptotic proteins. The bcl-2 and inhibitor of apoptosis protein families. *Cardiol Clin* 2001; 19: 57-74.
- Friedlander RM, Hengartner MO. The biochemistry of apoptosis. *Nature* 2000; 1407: 770-776.
- Gross A, McDonnell JM, Korsmeyer SJ. Bcl-2 family members and the mitochondria in apoptosis. *Genes Dev* 1999; 13: 1899-1911.
- Sarsılmaz M, Songur A, Ozyurt H, et al. Potential role of dietary omega-3 essential fatty acids on some oxidant/antioxidant parameters in rats' corpus striatum. *Prostag Leukotr Ess* 2003; 69: 253-259.
- 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.
- 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.

34. 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.
35. 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.
36. Halliwell B. Free radicals, antioxidants and human disease; curiosity, course or consequence? *Lancet* 1994; 344: 721-724.

Kabul Tarihi:23.07.2008