

Formaldehit Maruziyeti Sonucu Sıçan Akciğerinde Oluşan Oksidatif Hasara Karşı Melatonin Hormonunun Koruyucu Etkisi: Işık Mikroskopik ve Biyokimyasal Çalışma

İsmail Zararsız*, İltter Kuş*, Neriman Çolakoğlu**, Hıdır Pekmez*, H. Ramazan Yılmaz***, Mustafa Sarsılmaz*

Özet:

Amaç: Bu çalışmada, formaldehitin akciğer üzerine olan toksik etkileri ve bu toksik etkilere karşı melatoninin koruyucu etkisi araştırıldı.

Yöntem: 21 adet Wistar cinsi erkek sıçan üç gruba ayrıldı. Grup I'deki sıçanlar kontrol olarak kullanıldı. Grup II'deki sıçanlara gün aşırı olarak formaldehit enjekte edildi. Grup III'deki sıçanlara ise, formaldehit enjeksiyonu ile birlikte günlük olarak melatonin verildi. 14 günlük deney süresi sonunda bütün sıçanlar dekapitasyon yöntemi ile öldürüldü. Hayvanlardan alınan akciğer doku örnekleri rutin histolojik prosedürlerden geçirilerek ışık mikroskopunda incelendi. Ayrıca doku örneklerinde süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), ksantin oksidaz (XO) ve malondialdehit (MDA) aktiviteleri spektrofotometrik olarak tayin edildi.

Bulgular: Formaldehit uygulanan sıçanlarda SOD, XO ve MDA düzeylerinde kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir artışın olduğu tespit edildi. CAT değerlerinde ise, anlamlı bir azalma görüldü. Bu grubun ışık mikroskopik incelemesinde, terminal bronşiolerde kanama ve epiteliyal hücre dökülmelerinin olduğu gözlemlendi. Ayrıca, pulmoner interstisyumda kanama alanlarının olduğu ve hemosiderin yüklü makrofajların yaygın olarak bulunduğu tespit edildi. Formaldehit maruziyeti ile birlikte melatonin verilen sıçanlarda ise, formaldehitin neden olduğu histolojik değişikliklerin azaldığı tespit edildi. Ayrıca SOD, XO ve MDA düzeylerinde anlamlı bir azalma görüldü.

Sonuç: Sıçanlarda formaldehit maruziyeti sonucu akciğer dokusunda hasarın oluştuğu ve bu hasarın melatonin ile önleildiği tespit edildi.

Anahtar kelimeler: Formaldehit, melatonin, akciğer, sıçan, ışık mikroskop

Formaldehit (FA) suda çok iyi çözünen, renksiz, keskin kokulu, kimyasal formülü CH_2O olan bir aldehittir. Kuvvetli elektrofilik özelliği nedeniyle oldukça reaktif bir maddedir ve oda sıcaklığında gaz haline geçebilir (1). FA vücuda alındıktan sonra karaciğerde ve eritrositlerde formaldehit dehidrogenaz enzimi (FDH) katalizörülüğünde formik asite metabolize olur. Vücutta depo edilmeyen FA, ya formik asite dönüşerek idrar ve feçes yoluyla ya da karbondioksite okside olarak solunum yoluyla atılır (2). Formaldehit kimyasal özellikleri nedeniyle çok yaygın olarak kullanılan, organizmanın doğal yapısında da yer alan kimyasal bir maddedir.

Endüstriyel alanda kontraplak, sunta, yalıtım malzemeleri, boya ve plastik malzemelerin yapımında kullanılmaktadır. Tıp alanında ise, anatomi, histoloji ve patoloji laboratuvarlarında tespit solüsyonu olarak ve klinikte dezenfeksiyon amaçlı kullanılmaktadır. Özellikle anatomistler ve diseksiyon dersindeki tıp öğrencileri FA gazından çok sık etkilenirler. Ayrıca, günlük hayatta FA içeren ürünlerin ev ve işyerinde kullanılması (duvar boyası, mobilyalar, cila kaplamalar, deodorantlar, temizlik ürünleri v.b), yine çevresel etkenlerle maruziyet (fuel-oil ve odunun yanması ile, ekzos gazı ve sigara dumanı gibi) etkilenmeyi daha da artırmaktadır (1, 2).

Formaldehitin solunum sistemi toksisitesi düşük konsantrasyonlarda (0.5 ppm) bile ortaya çıkmaktadır. Akut etkilenmelerde burun ve boğazda yanma hissi, nefes darlığı, öksürük, hırıltılı solunum gibi klinik semptomlara neden olmaktadır. Daha yüksek konsantrasyonlarda ise, pulmoner ödem, inflamasyon ve pnömoni gelişmektedir (3-6). Doğal

* Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi, Anatomi Anabilim Dalı, Elazığ

** Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı, Elazığ

*** Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji ve Genetik AD, Isparta

Yazışma Adresi: Prof. Dr. Mustafa SARSILMAZ

Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi

Anatomi Anabilim Dalı, ELAZIĞ

Tablo I: Gruplara ait süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), ksantin oksidaz (XO) ve malondialdehit (MDA) değerlerinin karşılaştırılması. n: denek sayısı, değerler ortalama \pm SS şeklinde verildi. * $p < 0.05$ (Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında); ** $p < 0.05$ (FA grubu ile karşılaştırıldığında).

Biyokimyasal Parametreler	Kontrol (n=7)	FA (n=7)	FA + Melatonin (n=7)
SOD (U/mg)	0.141 \pm 0.01	0.176 \pm 0.02 *	0.130 \pm 0.02 **
CAT (k/g)	0.898 \pm 0.07	0.620 \pm 0.09 *	0.684 \pm 0.12
MDA (nmol/g)	1.320 \pm 0.24	4.577 \pm 0.29 *	1.329 \pm 0.08 **
XO (U/g)	0.718 \pm 0.11	2.768 \pm 0.14 *	1.746 \pm 0.12 **

ortamlarda maruz kalınan FA'nın, erişkinlerde ve özellikle çocuklarda solunum yolu hastalıklarıyla ilişkili olduğu bulunmuştur. Bu bulguları oluşturan spesifik mekanizmalar henüz belirlenmemiş olmasına rağmen formaldehitin indirekt olarak solunum epitelinin etkileyerek inflamatuvar reaksiyona neden olduğu bildirilmiştir (7-9). Mesleki olarak formaldehite maruz kalan işçiler arasında akciğer kanserinden ölüm oranının %30 daha fazla olduğu belirtilmiştir (10, 11).

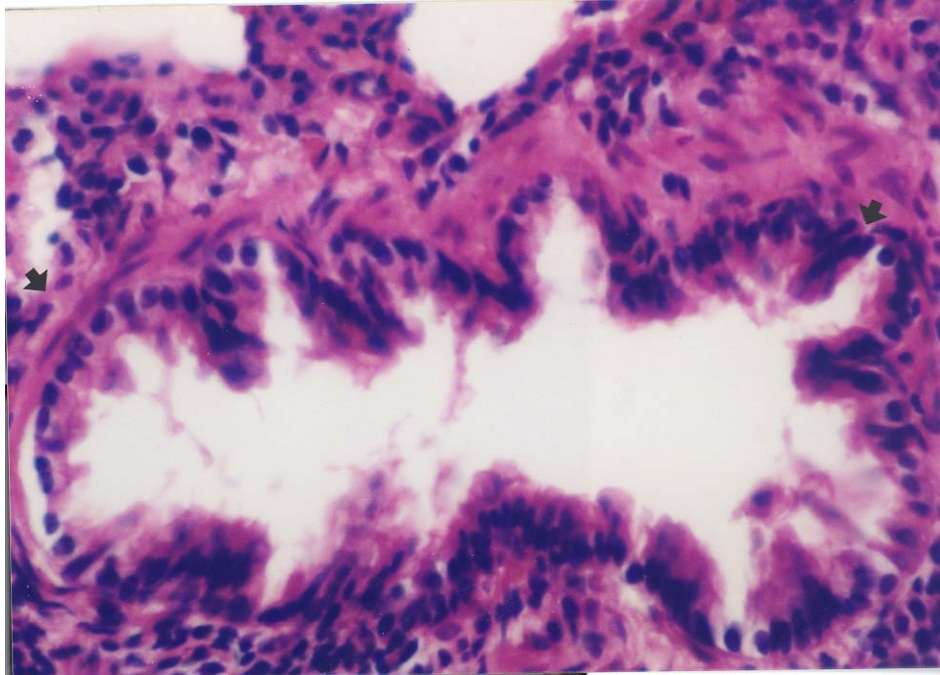
Melatonin pineal bezden karanlıkta ve sirkadiyan ritimde salgılanan bir hormon olup, endokrin sistemin düzenlenmesi, immün fonksiyonun artırılması, düz kas tonusunun ayarlanması ve gonadal fonksiyonların baskılanması gibi bir çok fonksiyonu vardır (12-16). Melatonin hem yağda hem de suda çözünebilir özelliğe sahip olduğu için nükleus dahil hücrenin her organeline ulaşabilir. Bu özellik DNA'nın oksidatif hasara karşı korunmasında melatonine bir üstünlük sağlamaktadır (12, 13). Melatonin güçlü bir antioksidandır ve lipid peroksidasyonu sonucu oluşan oksidatif hasarı önlediği bildirilmiştir (17, 18). Yapılan deneysel çalışmalarda, melatonin hormonunun akciğerleri pulmoner fibrosis ve iskemi sonrası reperfüzyon hasarından koruduğu gösterilmiştir (19, 20). Yapmış olduğumuz bu çalışmada, sistemik olarak uygulanan formaldehitin akciğer üzerine toksik etkileri ve bu toksik etkilere karşı melatoninin koruyucu etkisi histolojik ve biyokimyasal düzeylerde araştırmak amaçlandı.

Gereç ve Yöntem

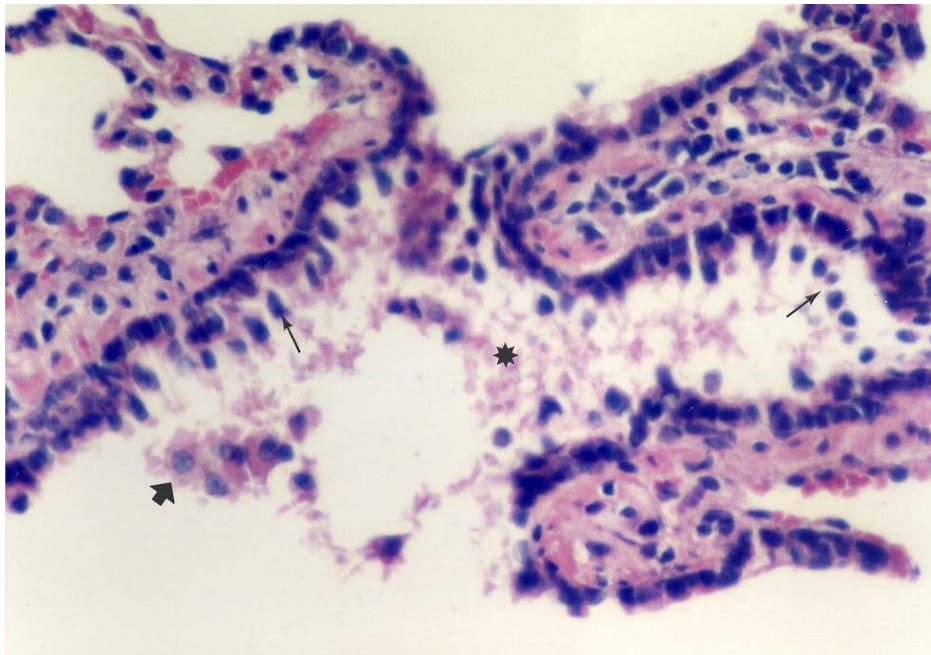
Çalışmamızda 310-320 gr ağırlığında toplam 21 adet Wistar-Albino cinsi erkek sıçan kullanıldı. Hayvanlar üç gruba ayrıldı. Grup I (n=7)'deki

kontrol sıçanlara gün aşırı olarak ve intraperitoneal (i.p) yolla sadece serum fizyolojik enjekte edildi. Grup II (n=7)'deki sıçanlara ise yine gün aşırı olarak ve serum fizyolojik ile 1/10 oranında sulandırılmış 10 mg/kg dozundaki formaldehit (FA) i.p olarak uygulandı. Grup III (n=7)'deki sıçanlara 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 i.p yolla günlük olarak enjekte edildi. 14 günlük deney süresi sonunda, tüm sıçanlar dekapitasyon yöntemiyle öldürüldü. Hayvanlardan alınan akciğer doku örneklerinin bir kısmı %10'luk formaldehit ile fikse edildi. Normal histolojik takip serilerinden geçirilerek parafine gömüldü. Parafin bloklardan alınan kesitler Hematoksilen-eosin ile boyandı ve preparatlar Olympus BH-2 araştırma mikroskopunda incelendi. Biyokimyasal değerlendirmeler için alınan akciğer doku örnekleri 0.15 M'luk soğuk (+4°C) 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'luk 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), katalaz (CAT), ksantin oksidaz (XO) enzim aktiviteleri süpernatanda ve malondialdehit (MDA) seviyeleri homojenatta spektrofotometrik olarak tayin edildi.

SOD Tayini: Süperoksit dismutaz enzimi Sun ve arkadaşlarının (21) modifiye ettiği metotla tayin edildi. Bu metodun prensibi nitroblue tetrazolium'un



Resim 1: Kontrol grubuna ait akciğer dokusunun görünümü. Terminal bronşiol (ok) normal yapıda izlenmekte. H.E X20.



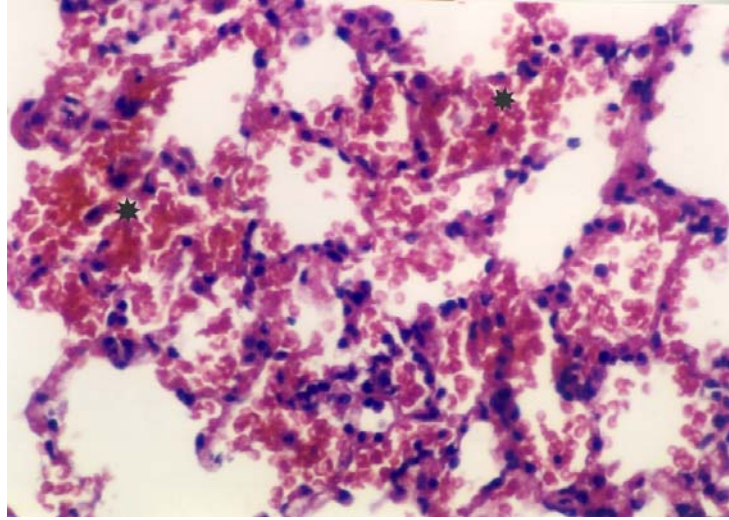
Resim 2: FA verilen sıçanlarda, terminal bronşiolde kanama (yıldız), epitelial hücre dökülmeleri (ince ok) ve makrofajlar (kalın ok) gözlenmektedir. H.E X20.

(NBT) süperoksit üreticisi olan ksantin-ksantinoksidaz sistemi tarafından indirgenmesi esasına dayanmaktadır. SOD aktivitesi ünite/mg doku proteini olarak ifade edildi.

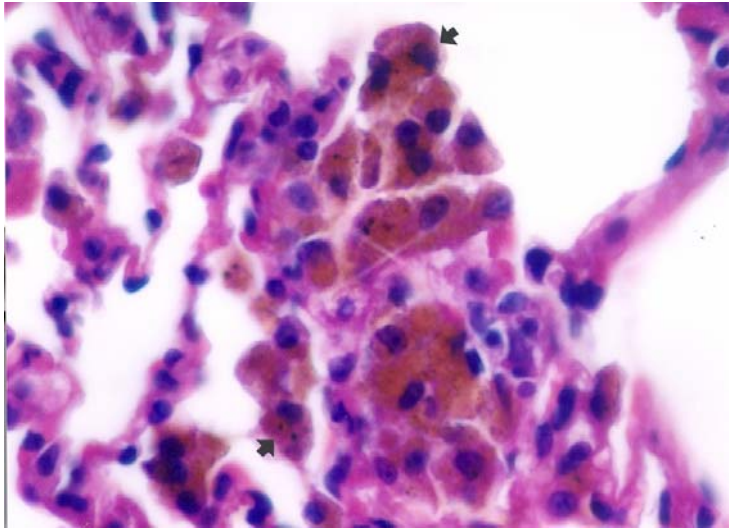
CAT Tayini: Katalaz aktivitesi Aebi metoduna göre çalışıldı (22). pH 9.7 glisin tamponunda bakır (Cu) kaplı kadmium granülleri deproteinize numune süpernatantı ile 90 dakikalık inkübasyona bırakılarak

nitratın redüksiyonu sağlandı. Üretilen nitrit; sülfanilamid ve buna bağlı N-naftiletillen diamin (NNDA) diazotizasyonu ile reaksiyon sonucu oluşan pembe rengin 545nm dalga boyunda spektrofotometrede okunması ile (k/g protein) olarak belirlendi.

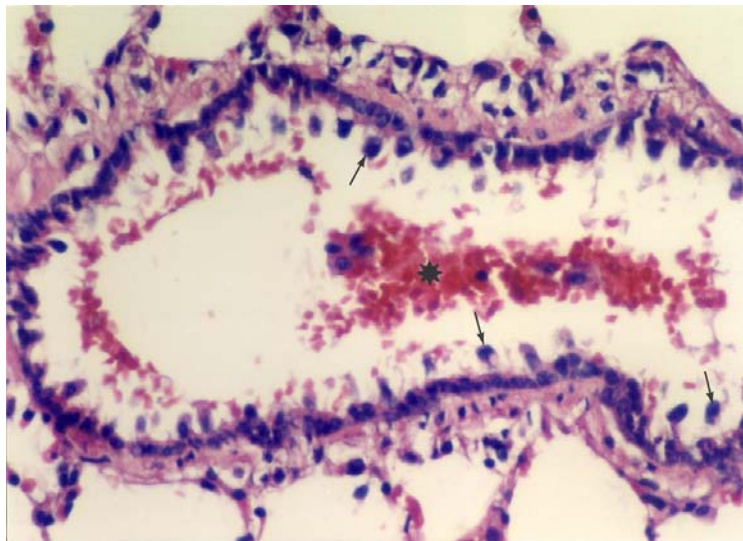
XO Tayini: Doku XO aktivitesi Prajda ve Weber'in (23) metoduna göre ksantinden oluşan ürik asit



Resim 3: Formaldehite maruz kalan sıçanlarda, pulmoner interstisyumda kanama alanları (yıldız) göze çarpmakta. H.E X20.



Resim 4: Formaldehit uygulanan grupta, pulmoner interstisyumda hemosiderin pigmenti yüklü makrofajlar (ok) ayırt edilmekte. H.E X40.



Resim 5: FA maruziyeti ile birlikte melatonin verilen sıçanlarda, terminal bronşioldeki kanama (yıldız) ve epitelyal hücre dökülmeleri (ok) dışında doku yapısının kontrol grubuna benzediği göze çarpmakta. H.E X20.

absorbasının 293 nm dalga boyunda okunmasıyla spektrofotometrik olarak tayin edildi pH 7.5 ve 37 °C’de oluşan 1 µmol ürik asit bir ünite aktivite olarak belirlendi. Sonuçlar ünite/gram protein (U/g protein) olarak ifade edildi.

MDA Tayini: Lipid peroksidasyon ölçüm metodu olan Esterbauer metodu uygulanarak yapıldı (24). Tiyobarbutirik asit ile 90-95 °C’de reaksiyona giren malondialdehit, pembe renkli kromojen oluşturmaktadır. Onbeş dakika sonra hızla soğutulan numunelerin absorbansları 532 nm’de spektrofotometrik olarak okundu. Elde edilen değerler nmol/gr protein cinsinden belirtildi.

İstatistik Analizi: PC ortamında “SPSS 9.05 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

Çalışmamızda, FA uygulanan sıçanlarda oksidatif antioksidan enzimlerden olan CAT enzim değerlerinin kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde düştüğü (p<0.05), SOD enzim seviyelerinin ise arttığı görüldü (p<0.05). Ayrıca oksidatif hasarı belirlemede önemli bir parametre olarak alınan MDA ve XO değerlerinin istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde artış gösterdiği tespit edildi (p<0.05). FA maruziyeti ile birlikte melatonin verilen sıçanlarda ise, SOD değerlerinde anlamlı (p<0.05) bir azalma, CAT enzim düzeylerinde anlamlı olmayan bir artış gözlemlendi. Aynı grubun MDA ve XO miktarlarının ise, istatistiksel olarak anlamlı (p<0.05) bir şekilde azaldığı tespit edildi (Tablo 1).

Çalışmamızın ışık mikroskopik incelemelerinde hematoksilen-eosin ile boyanan kontrol grubuna ait akciğer doku kesitlerinin normal görünümde olduğu tespit edildi. Bronş, bronşiol ve alveoller normal yapıda gözlemlendi (Şekil 1). FA uygulanan sıçanlarda ise, terminal bronşiolde kanama ve epitelyal hücre dökülmelerinin olduğu gözlemlendi. Ayrıca, pulmoner interstisyumda kanama alanlarının olduğu, hemosiderin yüklü makrofajların yaygın olarak bulunduğu ayırt edildi (Şekil 2, 3, 4). Formaldehit maruziyeti ile birlikte melatonin verilen sıçanlarda ise, terminal bronşioldeki epitelyal hücre dökülmeleri ve kanama alanlarının dışında doku yapısının kontrole benzediği tespit edildi (Şekil 5).

Tartışma

Formaldehitin (FA) deri, göz, santral sinir sistemi, gastrointestinal sistem, testis ve menstrüel fonksiyonlar üzerinde toksik etkilere sahip olduğu

bildirilmiştir (25-28). 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 (1, 2).

Akut olarak düşük doz FA solunması insanların çoğunda ve hayvanlarda üst solunum yollarında inflamatuvar hücre değişikliklerine yol açmaktadır. Formaldehit 10-20 ppm seviyelerinde öksürük, nefes darlığı, hırıltılı solunum gibi pulmoner etkilere neden olmakta, ayrıca yüksek konsantrasyonlarda ise, larynx’te ödem ve spazm görülmektedir. Pulmoner inflamasyon, ödem ve pnömoni ise 50-100 ppm dozlarında gelişmektedir (4-6). Formaldehite mesleki olarak maruz kalan işçilerde akciğer kanseri insidansı artmaktadır (29).

Organizmada herhangi bir patolojik olay veya fizyolojik şartlarda oluşan serbest radikaller ile bunların süpürücüsü olan antioksidan savunma sistemi arasında bir denge vardır. Bu dengeyi serbest radikaller lehine kayması oksidatif stresi gösterir. Canlılar oksidatif hasara karşı antioksidan sistem ve moleküllerle korunur. Hücre seviyesinde etkili olan enzimatik antioksidan sistemler içerisinde katalaz (CAT), süperoksit dismutaz (SOD) yer alır (30).

Teng ve ark. (31) izole sıçan hepatositlerinde yaptıkları deneysel çalışmada formaldehitin düşük konsantrasyonlarının bile oksidatif hasara yol açtığını bildirmişlerdir. Sarsılmaz ve ark. (32) sıçanlara solunum yoluyla FA uygulayarak karaciğer dokusunda CAT aktivitesinin azaldığını ve SOD aktivitesinin arttığını tespit etmişlerdir. Benzer şekilde biz de yapmış olduğumuz bu çalışmada, formaldehite maruz kalan sıçanların akciğer dokusunda CAT enzim düzeylerinin azaldığını, SOD enzim aktivitelerinin ise arttığını tespit ettik. SOD, süperoksit radikallerini hidrojen peroksit (H₂O₂) ve moleküler oksijene çevirir. Çalışmamızda formaldehit uygulamasından dolayı akciğer dokusunda süperoksit radikalleri artmış olabilir. Buna bağlı olarak SOD enziminin aktivitesinde de artış olabilir. SOD enzim aktivitesinin artmasıyla da ortamda H₂O₂ miktarı artacaktır. H₂O₂, CAT ve glutatyon peroksit (GSH-Px) enzimleri tarafından suya çevrilerek ortamdaki uzaklaştırılır. Çalışmamızda CAT enzim aktivitesindeki azalma, FA etkisiyle CAT enzim proteininin yapısındaki değişiklik ya da sentezinin azalmasından dolayı olabilir. Ayrıca ortamda artan H₂O₂ fenton reaksiyonu ile güçlü bir oksidan olan hidroksil radikali (OH) çevrilmiş olabilir. Bu radikal de membran lipidlerinden olan esansiyel çoklu doymamış yağ asitlerinin oksidasyonu nedeniyle MDA düzeyinde artışa neden olmuş olabilir.

MDA ve XO oksidatif stresi göstermede yaygın olarak kullanılan parametrelerdir ve dokuda herhangi bir hasar meydana geldiği zaman seviyeleri artmaktadır (30). Topal ve ark. (33) sıçanlar üzerinde yaptıkları çalışmada, hiperbarik oksijen uygulamasının akciğer dokusunda oksidatif hasar oluşturduğunu ve MDA miktarlarının yükseldiğini tespit etmişlerdir. Yine Kamal ve ark. (34) yaptıkları çalışmada silica ve asbeste maruz kalan işçilerde MDA düzeylerinin anlamlı bir şekilde arttığını bildirmişlerdir. Yapmış olduğumuz bu çalışmada, formaldehite maruz kalmış akciğer dokusunda XO ve MDA aktivitelerinin istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde arttığı görüldü. MDA düzeyindeki bu artış FA'nın akciğer dokusunda lipid peroksidasyonuna ve doğal olarak oksidatif hasara yol açtığını ortaya koymuştur. Ayrıca çalışmamızın ışık mikroskopik incelemelerinde, FA maruziyeti sonucu akciğer dokusunda meydana gelen hasar histolojik olarak da gösterilmiştir.

Melatonin hormonu pineal bez tarafından salgılanır ve vücutta bir çok fizyolojik fonksiyonların düzenlenmesinde görev alır. Güçlü bir antioksidan olan melatonin (35) SOD, GSH-Px ve glutatyon redüktaz gibi antioksidan enzimlerin aktivitesini stimüle ederek (36) dokularda lipid peroksidasyon sonucu oluşan oksidatif hasarı önler (37).

Son zamanlarda yapılan araştırmalarda melatoninin antioksidan özelliği vurgulanmış ve melatonin hormonunun oksidatif strese bağlı olarak oluşan akciğer hasarına karşı koruyucu etkisinin olduğu ortaya konmuştur (20, 33, 38). Arslan ve ark. (20), melatonin hormonunun sıçan akciğerinde bleomisinle oluşturulmuş pulmoner fibrozisi önlediğini bildirmişlerdir. Yine Topal ve ark. (33) yaptıkları çalışmada, hiperbarik oksijen maruziyeti ile sıçan akciğerinde oluşan oksidatif strese karşı melatonin uygulamasının koruyucu etki oluşturduğunu göstermişlerdir. Benzer şekilde Şener ve ark. (38) yapmış oldukları çalışmada, sıçan akciğerinde civa ile indüklenmiş oksidatif hasarın melatonin uygulaması ile engellendiğini tespit etmişlerdir.

Çalışmamızda, akciğer dokusunda FA maruziyetine bağlı olarak oluşan hasarın melatonin tarafından önlendiğini gösteren bulgular tespit edildi. Yani, FA maruziyeti ile birlikte melatonin verilen sıçanlarda, MDA ve XO seviyelerinin azaldığı, SOD enzim düzeylerinin azalarak kontrol grubu seviyesine geldiği tespit edildi. FA maruziyetine bağlı olarak SOD enzim aktivitesindeki artışın, melatonin tedavisi sonucu azalması, melatoninin süperoksit radikallerinin üretimini azaltıcı etkisi ile açıklanabilir. Ayrıca bu gruba ait akciğer dokusunun histolojik incelenmesinde, terminal bronşioldeki epitelyal hücre dökülmeleri ve kanama alanlarının dışında doku yapısının düzeldiği saptandı.

Sonuç olarak, FA maruziyetinin akciğer dokusunda hasara yol açtığı ve bu hasara karşı melatonin hormonunun koruyucu etki gösterdiği tespit edildi.

Protective Effects of Melatonin Hormone Against Exposure of Formaldehyde-Induced Oxidative Damage in Lung of Rats: Light Microscopic and Biochemical Study.

Abstract:

Aim: *The toxic effects of formaldehyde on lung and protective effects of melatonin against these toxic effects were investigated in this study.*

Method: *21 adult male Wistar rats were divided into three groups. Rats in group I were used as control. Rats in group II were injected with formaldehyde every other day. Rats in group III daily received melatonin with injection of formaldehyde. At the end of 14-days experimental period, all rats were killed by decapitation. The lung tissue specimens which were taken from the rats were examined in light microscope with passing on the routine histological procedures. The activities of superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), xanthine oxidase (XO) and malondialdehyde (MDA) were determined in the lung specimens by using spectrophotometric methods.*

Results: *In our study in rats which were performed formaldehyde, it was determined that there is a significant increase in the levels of SOD, XO and MDA compared to control group statistically. It was observed that there was a significant decrease in the level of CAT. In the light microscopic examination of this group, it was observed bleeding and epithelial spilt on terminal bronchioles. Furthermore hemosiderin loaded macrophages and bleeding areas in interstitium. It was determined that the histological changes were decreased which caused by formaldehyde exposure in rats that were received melatonin. Additionally, it was seen that a significantly decrease in the levels of SOD, XO, MDA in this group.*

Conclusion: *It was determined that the damage was occurred in lung tissue of rats exposed to formaldehyde and this damage was prevented by melatonin.*

Key words: *Formaldehyde, melatonin, lung, rat, light microscopy.*

Kaynaklar

1. Smith AE. Formaldehyde. *Occup Med* 42: 83-88, 1992.
2. Usanmaz SE, Akarsu ES, Vural N. Neurotoxic effects of acute and subacute formaldehyde exposures in mice. *Envir Toxicol Pharmacol* 11: 93-100, 2002.
3. Occupational Safety and Administration. Preliminary assesment on the health effects of formaldehyde. *Occup Safety and Health Rep* 14: 476-483, 1984.
4. Blair A, Stewart PA, Hoover RN. Mortality from lung cancer among workers employed in formaldehyde industries. *Am J Ind Med* 17: 683-699, 1990.

5. Heck H, Casanova M. Pharmacodynamics of formaldehyde: Applications of a model for the arrest of DNA replication by DNA-protein cross- links. *Toxicol Appl Pharmacol* 160: 86-100, 1999.
6. Kriebel D, Myers D, Cheng M, Woskie S, Cocanour B. Short term effect of formaldehyde on peak expiratory flow and irritant symptoms. *Arch Environ Health* 56: 11-18, 2001.
7. Franklin P, Dingle P, Sticks S. Reised exhaled nitric oxide in healthy children is associated with domestic formaldehyde levels. *Am J Respir Crit Care Med* 161: 1757-1759, 2000.
8. Özen O, Sarsılmaz M. Solunan havadaki formaldehit toksisitesi ve alınması gereken önlemler. *Fırat Tıp Dergisi* 2: 6-12, 2000.
9. Riedel F, Hasenauer E, Barth PJ, Koziorowski A, Rieger CH. Formaldehyde exposure enhances inhalative allergic sensitization in the guinea pig. *Allergy* 51: 94-99, 1996.
10. Halperin WE, Goodman M, Stayner L, Elliot LJ, Keenlyside RA, Landrigan PJ. Nasal cancer in a worker exposed to formaldehyde. *JAMA* 249: 510-512, 1983.
11. Hayes RB, Raatgever JW, de Bruyn A, Gerin M. Cancer of the nasal cavity and paranasal sinuses and formaldehyde exposure. *Ind J Cancer* 37: 487-492, 1986.
12. Arendt J. Melatonin. *Clin Endocrinol* 29: 205-209, 1988.
13. Kuş İ, Sarsılmaz M. Pineal bezin morfolojik yapısı ve fonksiyonları. *T Klin J Med Sci* 22: 221-226, 2002.
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* 14: 45-51, 1993.
15. Kus I, Akpolat N, Ozen OA, Songur A, Kavakli A, Sarsilmaz M. Effects of melatonin on Leydig cells in pinealectomized rat: an immunohistochemical study. *Acta Histochem* 104: 93-97, 2002.
16. Guerrero JM, Reiter RJ. A brief survey of pineal gland-immune system interrelationships. *Endocr Res* 18: 91-113, 1992.
17. Zang LY, Cosma G, Gardner H, Vallyathan V. Scavenging of reactive oxygen species by melatonin. *Biochim Biophys Acta* 1425: 469-477, 1998.
18. Longoni B, Salgo MG, Pryor WA, Marchiafava PL. Effects of melatonin on lipid peroxidation induced by oxygen radicals. *Life Sci* 62: 853-859, 1998.
19. Inci I, Inci D, Dutly A, Boehler A, Weder W. Melatonin attenuates posttransplant lung ischemia-reperfusion injury. *Ann Thorac Surg* 73: 220-225, 2002.
20. Arslan SO, Zerim M, Vural H, Coskun A. The effect of melatonin on bleomycin-induced pulmonary fibrosis in rats. *Pineal Res* 32: 21-25, 2002.
21. Sun Y, Oberley LW, Li Y. A simple method for clinical assay of superoxide dismutase. *Clin Chem* 34: 497-500, 1988.
22. Aebi H. Catalase In: Bergmeyer U, ed. *Methods of enzymatic analysis*. New York and London, Academic Press, 1974, pp: 673-677.
23. Prajda N, Weber G. Malignant transformation-linked imbalance: decreased xanthine oxidase activity in hepatomas *FEBS Lett* 59: 245-549, 1975.
24. Esterbauer H, Cheeseman KH. Determination of aldehydic lipid peroxidation products: malonaldehyde and 4-hydroxynonenal. *Methods Enzymol* 186: 407-421, 1990.
25. Songur A, Akpolat N, Kus I, Ozen OA, Zararsiz I, Sarsilmaz 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* 33: 168-178, 2003.
26. Nilsson JA, Zheng X, Sundqvist K, Liu Y, Atrozi L, Elfving A. Toxicity of formaldehyde to human oral fibroblast and epithelial cells: influences of culture conditions and role of thiol status. *J Dent Res* 77: 1896-1903, 1998.
27. Sarsılmaz M, Özen OA. Subkronik dönem boyunca formaldehit soluyan sıçanların leydig hücrelerindeki histopatolojik değişiklikler. *Fırat Tıp Dergisi* 2: 1-5, 2000.
28. Thrasher JD, Kilburn KH. Embryo toxicity and terotogenicity of formaldehyde. *Arch Environ Health* 56: 300-311, 2001.
29. Callas PW, Pastides H, Hosmer DW Jr. Lung cancer mortality among workers in formaldehyde industries. *J Occup Environ Med* 38: 747-751, 1996.
30. Pompella A. Biochemistry and histochemistry of oxidant stress and lipid peroxidation. *Int J Vitam Nutr Res* 67: 289-297, 1997.
31. Teng S, Beard K, Pourahmad J, Moridani M, Easson E, Poon R. The formaldehyde metabolic detoxification enzyme systems and molecular cytotoxic mechanism in isolated rat hepatocytes. *Chem Biol Interact* 130: 285-296, 2001.
32. Sarsılmaz M, Özen OA, Özyurt H. Subakut ve subkronik formaldehit inhalasyonundan sonra sıçanlarda karaciğer enzimatik antioksidan sistemin değerlendirilmesi. *Van Tıp Dergisi* 7: 84-89, 2000.
33. Topal T, Oter S, Korkmaz A, Sadir S, Metinyurt G, Korkmazhan ET, Serdar MA, Bilgic H, Reiter RJ. Exogenously administered and endogenously produced melatonin reduce hyperbaric oxygen-induced oxidative stress in rat lung. *Life Sci* 75: 461-467, 2004.
34. Kamal AA, Goma A, el Khafif M, Hammad AS. Plasma lipid peroxides among workers exposed to silica or asbestos dust. *Environ Res* 49: 173-180, 1989.
35. Stastica P, Ulanski P, Rosiak JM. Melatonin as a hydroxyl radical scavenger. *J Pineal Res* 25: 65-66, 1998.
36. Reiter RJ, Carneiro RC, Oh CS. Melatonin in relation to cellular antioxidative defense mechanisms. *Horm Metab Res* 29: 363-372, 1997.

Zararsız ve ark.

37.