

33179

T.C
EGE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
MORFOLOJİ ANABİLİM DALI
Prof.Dr. Yılmaz ŞENYILMAZ

**BEYAZ SIÇAN (RATTUS ALBİNUS) ve BEYAZ
FARELERDE FORMALDEHYDE'İN İNHALASYON
YÖNTEMİYLE TRACHEA MUKOZASINDA
YARATTIĞI HİSTOPATOLOJİK DEĞİŞİKLİKLERİN
İNCELENMESİ**

UZMANLIK TEZİ

Dr.Z.Aslı AKTAN

TEZ YÖNETİCİSİ

Prof.Dr. Yılmaz ŞENYILMAZ

T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
BİYOMANTASYON MERKEZİ

İZMİR-1993

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

Giriş.....	1
Formaldehitin Etkileri.....	6
Çalışmanın Amacı.....	13
Sıçanda Trachea Anatomisi.....	14
Gereç-Yöntem.....	18
Gözlem.....	22
Histopatolojik Bulgular.....	25
Tartışma.....	31
Sonuç.....	40
Özet.....	43
Kısaltmalar.....	45
Resimler.....	46
Kaynaklar.....	57

Çalışmam sırasında bana her konuda yardımcı olan değerli hocalarım Prof.Dr. Yılmaz Şenyılmaz'a ve Doç.Dr.Tomris Özgür'e , Dr.Sait Şen'e, Uzm.Dr.Ragıp Ortaç'a ve sevgili çalışma arkadaşım Uzm.Dr.Figen Gövsa'ya çok teşekkür ederim.

GİRİŞ

Her geçen gün uygarlık ve teknoloji büyük adımlarla ilerlemeye devam etmektedir. Bu büyük ilerlemenin eşliğinde günlük yaşantımıza katılan yeni ürünlerin sayısı ve miktarı giderek artmaktadır. Ancak bu yeni ürünlerin insan yaşamına getirdiği kolaylıklarının yanı sıra insan sağlığına zararları da vardır ve bunlar göz ardı edilemez. Bu yüzden bu ürünlerin avantajları ve dezavantajları kesin olarak saptanmalı, kullanılacaklarsa bile belli önlemler eşliğinde kullanılmalıdırlar (25,26,54).

Kullanım alanı giderek artan ve artmaya devam eden formaldehit de insan sağlığını tehdit eden kimyasal ajanlardan biridir (60,80,85).

Formaldehitin en belirgin özelliği rahatsız edici kokusudur. Ayrıca renksiz ve uçucudur. Molekül ağırlığı düşük olan bu aldehit suda yüksek oranda çözünür. Formaldehitin (HCHO) suda %40 oranında çözünen formu formalin ismi ile anılır (1,53).

Formaldehit (HCHO) doğal ve antropogenetik kaynaklardan elde edilir. En sık elde ediliş yolu bir metal katalizör varlığında metanolün oksidasyonu iledir. Bu nedenle formalin solüsyonunda metanol de bulunur. Formaldehit, trioksan ve polioximetilen glikol gibi polimerlerle hemen paraformaldehite polimerize olur. Bu polimerizasyonu önlemek amacıyla formalin solüsyonuna

%15 oranında methanol eklenir. Dializ ve infüzyon sıvılarında da formaldehite mutlaka methanol eklenmesi gereklidir (25,26,46,53).

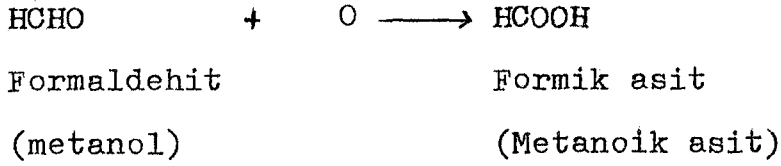
Formaldehitin çeşitli formlarının insan ve hayvanlarda karsinojenik özellik taşıdığı pek çok araştırmacı tarafından kanıtlanmıştır. Örneğin suda hidrasyona uğramış formu karsinojendir (4,19,25,26,62).

Formaldehit, çalışıldığı ortamlarda solunum organları tarafından inhalasyonla ve deriden de absorpsiyonla vücuda alınır. Solunum organlarınca alındıktan sonra hızla alt solunum yollarına iletilir. Karaciğer tarafından metabolize edilerek kana "format" formu ile verilir. İdrarla böbreklerden, karbondioksite dönüşerek akciğerlerden dışarı atılır. Az sayılabilecek bir miktarı da protein veya nükleik asitin karbon yapısına girerek organizmada kalır (54).

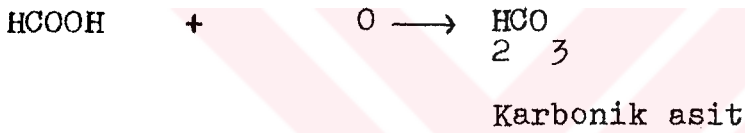
Formaldehit, kimyada alifatik aldehitler olarak bilinen bileşik sınıfının ilk üyesidir. Dezenfektan özelliği vardır. Proteinleri katılaştırır. Fotoğraf filmlerinin duyarlı yüzeyinde jelatin içinde gümüş tuzları süspansiyon halindedir. Bu jelatin formaldehit ile katılaştırılır. Fenol ile birleşerek bir kondansasyon reaksiyonu sonunda bakalit adı verilen önemli reçineyi yapar. Formaldehitten ayrıca galalit, plaskon gibi başka plastik maddeler de elde edilir. Galalit formaldehit ile sütün kazeininden, plaskon üre ile

formaldehitten elde edilir. Galalitten düğme, tarak vb. eşya ; plaskondan çanta sapları, süs eşyası yapılır (5,51,53).

Formaldehitin bir basamak yükseltgenmesi ile formik asit elde edilir :



Bu yükseltgenme daha ileri giderek karbonik asit verir.



Formaldehitin ürea-formalin formu vernik, tutkal, boya, kontroplak, parke gibi yüzey kaplayıcılarda, kağıdın beyazlaştırılması ve tabakalanmasında, kumaşların ve tekstil ürünlerinin kolalanıp, tabakalanmasında kullanılır (1,2,4,22,29,30,47,54).

Yiyeceklerin ambalajlanmış biçimlerinin içine uzun süre korumak için konur. Ayrıca sabun ve kozmetik sanayide özellikle antimikrobiyal etkisi nedeniyle kullanılır. Formaldehit mikropların üremesini, dirençli suşlar oluşmasını önler. Bakterilere, maya ve küf mantarlarına karşı geniş spektrumlu etkisi nedeniyle banyo suları, saç spreyleri, şampuanlar, vücut ve el losyonlarında %1 oranında bulunur. Deodorantlarda bu oran %5'i bulur (3,5,18,22,31,53,60).

YAPISINDA FORMALDEHİT İÇEREN ÜRÜNLER

Yapıştırıcı ve Tutkallar
Kozmetik Maddeler (örnek: şampuanlar)
Deodorantlar
Deterjanlar, Sabunlar ve Diğer Arıticılar
Boyalar, Kağıtlar (özellikle beyaz kağıt)
Patlayıcılar
Gübreler
Filtreler ve Kimyasal Maddeler
Yiyeceklerin Saklanması Kullanılan Koruyucular
Deri, Kürk Yapımı ve Tabakalanmasında
Parke, Kontraplak, Formika
Lastik, Kauçuk, Silgi vb. Esnek Maddeler
Cila, Vernik vb. Yüzey Kaplayıcılar
Tekstil Ürünleri
Su Yumuşatıcıları

Yukarıdaki tablo Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından 1985'te yayınlanmıştır.

Formaldehit tıp dünyasında dokunun korunması ve tespiti için çok sık kullanılır. Kadavraların fiksasyonunda, otopsi çalışmaları sırasında, histolojik ve patolojik doku takibi aşamalarında formaldehit kullanımı çok fazladır. Kadavraların fiksasyonu için kullanılan fiksatifin içeriği genellikle şu şekildedir :

- % 5 formalin
- % 5 fenol
- % 20 gliserin
- % 50 etil alkol
- % 20 su

Her disseksiyonda ise % 27,5 formalin, % 9 methanol 20 galon suya dilue edilerek verilir (23,25,39,41,64, 77,83). Bizim anabilim dalımızda bir kadavra materyali için total olarak 20-25 lt. fiksasyon sıvısı kullanılır. Bu solüsyonun içeriği şu şekildedir :

- 6 lt formalin
- 12 lt çeşme suyu
- 2 lt etil alkol
- 50 cc fenik asit

Stok solüsyonun içeriği :

- 7 kısım formalin
- 4 kısım gliserin

Formaldehit farmakolojide de bazı ilaçların, biolojik ajanların ve viral aşuların yapısında % 0.05 oranında reaktive edici olarak bulunur.

Diş Hekimliğinde desensitizer olarak kullanılır.

Renal dializ ünitelerinde üriner antiseptik olarak bulundurulmuş methenamine dializ sırasında serbest formaldehite dönüşür ve bu yolla sterilizasyon amaçlanır (12,53,54,55,66).

Sigara dumanında, taşıtların eksoz dumanında ve fotokimyasal dumanlarda değişik konsantrasyonlar halinde bulunur. Ayrıca formaldehit içeren tüm ürünlerin yanması sonucu ortaya çıkan dumanlarda formaldehit tespit edilmiştir. Parke, formika ve polyesterde bu oran en fazladır (8,10,14,26,51,60).

FORMALDEHİTİN ETKİLERİ

Yukarıda belirtildiği gibi formaldehit çok geniş kullanım alanı olan bir ajandır. Ticari ve sanayide 1868 yılında kullanılmaya başlanmıştır ve halen yoğun olarak kullanılmaktadır. Yapılan istatistiklerde en sık formalin ve ürea-formalin olarak kullanıldığı gözlenmiştir (1,2,5,29,30). Formaldehitin en sık kullanıldığı yerler arasında ise morglar, disseksiyon ve otopsi salonları gelir. Bu nedenle anatomistlerde, pataloglarda ve bu yerlerin diğer çalışanlarında ; ayrıca endüstride formaldehit ile çalışılan yerlerdeki elemanlarda görülen kaşıntı, göz sulanması, öksürük, ellerin yanması ve diğer dermatolojik yakınmalarla semptomlar formaldehite bağlanmıştır. Formaldehit gazı ile

sürekli çalışan insanlarda toksikolojik olarak gazın yan etkileri incelenmiş ve iki grup halinde sınıflandırılmıştır (41,43).

1- İrritan etkiler

a) Akut etkiler

b) Kronik etkiler

2- Karsinojenik etkiler

Formaldehitin tüm etkileri onun bir irritan ajan olması ile ilgilidir. Proteinlerin karbonil ve serbest amino grupları ile oluşturduğu reaksiyon mukoz membranlarda iritasyon ile sonuçlanır (53,54,74).

Akut Etkiler :

Göz iritasyonu, 0.01 ppm. ve hatta bunun altındaki konsantrasyonlarda bile görülür. Gözde yanma, sulanma, konjonktivit, korneal opasite ve protein presipitasyonu ya da koagülasyonu sonucunda ani görme kayıpları ortaya çıkar. Formaldehit pek çok farklı komponent içerir. Bunlardan propylene-nitrogen dioksit göz iritasyonunu yapar. Göz iritasyonu formaldehit etkisi ile oluşan ilk uyarılardan biridir (12,26).

Koku yeteneğini de düşük konsantrasyonlarda etkileme özelliği vardır. Bu koku kaybı ya da değişik kokular algılanması şeklinde olabilir (29).

Daha yüksek konsantrasyonlarda solunumu engeller. Öksürük, balgam, substernal ağrı, wheezing (hırıltılı solunum), dispne, göğüs sıkıntısı, rinitis, nasal pa-

sajda obstrüksiyon ortaya çıkabilir. Ayrıca farinks irritasyonu nedeniyle öğürme reflexi uyarılır. Bulantı-kusma, farinkste akıntı, hapsırma görülebilir. Bunlar dışında hiperventilasyon, panik hissi farkedilir. Formaldehitin solunması havayolu direncini arttırmak yolu ile akut bronkokonstriksiyon ve akut astım krizleri oluşturabilir. Akciğer fonksiyon testlerinde bozulma ve giderek kötüye gidiş gözlenir (4,30,34,61). Solunum yollarında hızla aşağıya ilerlerken trachea ve bronşların en alt noktalarına kadar inip alveollerdeki amino asitlerin yapısındaki -SH ve -NH grupları ile reaksiyona girerek, dokunun yapısındaki proteinlere zarar verir. Pulmoner ödem ve şok akciğeri oluşturur (54,67,73).

Uyku düzensizlikleri, uykuya dalmada zorluk, ışığa karşı aşırı duyarlılık, hafıza kaybı, dikkat toplamada güçlük formaldehitin yarattığı etkiler arasındadır (22,26).

Deride yarattığı etkiler arasında kaşıntı, kızarıklık, kuruma, fissur, eritem ve direnç düşüklüğüne bağlı olarak meydana gelen mantar enfeksiyonları sayılabilir (22,26).

Formalin solüsyonunun oral yolla alınımı genellikle suicide girişimlerinde olur. Bu yolla alındığında, formaldehitin müköz membranlarda yarattığı yüksek irritan etki nedeniyle mide ve oesophagus mukozası için

koroziv (yakıcı) bir madde olur. Koroziv maddelerin alınması ile ortaya çıkan tüm komplikasyonları gösterir (51). Ayrıca vücuda alınan formalin ve metanol formik aside dönüşür. Bu şiddetli metabolik asidoz ve renal yetmezliğe bağlı anüri tablosunu açığa çıkarır. Bikarbonat infüzyonu ve hemodializ terapisi yapılmazsa kişi vasküler kollapstan ölür.

Kronik Etkiler :

Formaldehit üst solunum yollarında belirgin olarak mukus artışına ve mukocilier aktivitenin azalmasına neden olur. Artan formaldehit konsantrasyonu ile hücre proliferasyonu ve hücre yıkımı da artar. Rinit, episodik wheezing (hırıltılı solunum nöbetleri) ve astım krizleri, kuru-kanlı öksürük, dispne (solunum güçlüğü), kronik bronşit, sinüzit sıkça görülen etkileri arasındadır. Bu değişikliklere bağlı olarak solunum fonksiyon testlerinde bozulma gözlenir. Fonksiyonel vital kapasite (FVC) % 60, maximum expiratuvar fonksiyon (MEF) ise % 40-50 oranında bozulur. Sigara içenlerde bu patolojiler ve solunum fonksiyon testlerinde bozukluk daha belirgindir (8,23,55,63,84).

Deride belirgin biçimde irritasyon ve allerjik kontakt dermatit oluşturur. Eritem, fissür, erozyon, nekroz, ülserasyon, fotosensitivite, dermatit, ekzama, ürtiker, makulopapüler ve vezikulopapüler erüpsiyonlar, hiperestezi, anjionörotik ödem, tırnak lez-

yonları ve saç dökülmesi en sık karşılaşılan deri semptomlarıdır. Bunların hepsi YAMA testiyle gösterilmiştir (5, 15,41,56,59,74,79).

Formaldehit makrofajların aktivasyonunu da hasara uğratar. Direnç sistemi hasara uğradıkça enfeksiyonlara yatkınlık artar ve ortaya çıkan enfeksiyonların tedavisi zorlaşır. Uzun süreli kullanımı ile B lenfositlerde artış gözlenir. Ayrıca immunoglobulin G (IgG)' de de artış olur. Ama IgG'nin B lenfositler üzerindeki frenleme mekanizması işlemez. Bunların dışında T lenfositlerde artış, eosinofili, bazofili bulgular arasındadır (3,9,20,44,57).

Allerjiye eğilimli kişilerde uzun süre formaldehit inhalasyonu IgE'ye bağlı nasal allerji oluşturur(57).

Bronşlardaki iyon transportu bozulur (8).

Genital sistemle ilgili bozukluklar da görülür. Libido azalması, menstürel bozukluklar, siklus düzensizlikleri, infertilite hatta intrauterin asfiksi görülür (28).

Formaldehitin teratojenik etkisi bugüne dek gösterilememiştir. Ama mutajenik etkisi günümüzde iyi bilinmektedir. Gen mutasyonları, kromozomal aberasyonlar, delesyon, nokta mutasyonları, duplikasyonlar, inversiyon, translokasyon ve anopluidi saptanmış mutajenik etkilerdir. Bazı koşullarda (ör : Ultraviyole etkisi vs) bu etki daha da belirginleşir (24,27,31).

Kanser yapıcı etkisi şu şekilde açıklanabilir : Formaldehit, nitrojen içeren bileşiklere karşı belirgin affinitesi olan bir ajandır. Bu affinite sonucu DNA yapısını bozar. 1985'te Amerika Sağlık Komitesinin yayınladığı raporda formaldehitin göz, solunum yolları vs. üzerine etkisi yanında nasal kavitede karsinoma neden olduğu ve diğer tümoral oluşumları provake ettiği üzerinde durulmuştur(11,12,41,59). İlk kez 1980'de Swenberg ve arkadaşları ve 1982'de Albert ve arkadaşları, sıçanlarda nasal kavite mukozasında deneysel olarak tümör oluşturmuşlardır (76). Uluslararası Kanser Araştırma Merkezi (IARC-1987) de formaldehitin bu etkisini bildirmiş ve nasal-nasofaringeal kanserler için bu olasılığın daha fazla olduğunu belirtmiştir (4,57).

Ayrıca oral mukozada, tonsil'lerde, parotis'te, yumuşak damakta, oesophagus'ta, kolon'da, rectum'da, karaciğerde, pankreas'ta, safra kesesinde, sinuslarda, trachea'da, bronşlarda, akciğerlerde, prostat'ta, böbreklerde, uterus'ta, beyinde karsinom oluşumuna neden olabilir. İstatistiklerde malign melanom, Hodgkin ve non-Hodgkin lenfomaları türünde tümörlere de formaldehitli ortamlarda çalışanlarda daha fazla rastlanmıştır (10,13).

Dünya Sağlık Örgütü (WHO) kapalı çalışma ortamlarında 8 saatlik çalışma süresinde solunan havada formaldehitin 3 ppm.i geçmemesini ve 1-1,5 ppm.lik düzeyin uygun olabileceğini belirtmiştir (19,20). Ayrıca kısa süreli yoğun konsantrasyon, uzun süreli minimal konsantrasyondan daha toksiktir (21).

Formaldehit Konsantrasyonu (ppm)	Belirtiler
0 - 0.05	-----
0.05 - 1.5	Nörofizyolojik Etkiler
0.05 - 1	Koku Eşiği
0.01 - 2	Göz İrritasyonu
0.1 - 25	Üst Solunum Yolu İrritasyonu
5 - 100	Pulmoner Ödem, İnflamasyon
100 - ↑	Ölüm

ÇALIŞMANIN AMACI

Günümüzde insan sağlığını tehdit eden kimyasal maddelere gösterilen ilgi, bu tehdidin önemi yüzünden giderek artmaktadır. Formaldehit de bu kimyasal maddelerden bir tanesidir ve anatomi çalışma ortamının da temel maddesidir. Bu yüzden formaldehitin organizmada meydana getirdiği makroskobik ve mikroskobik değişiklikler araştırılmıştır.

Formaldehit pek çok meslek alanında çok farklı amaçlarla kullanılan bir kimyasal maddedir. Bu maddenin inhalasyon yoluyla verilmesinden sonra trachea mukozasında meydana getirdiği histolojik değişikliklerin incelenmesi amaçlanmıştır.

Deney hayvanı olarak insan dokusuna benzerliği nedeni ile beyaz sıçan (*rattus albinus*) ve beyaz fareler kullanılmıştır. Bu hayvanlarda gerek yaş gerekse cinsiyet ayrımına bağlı değişiklikler de göz önünde tutulmuştur.

SIÇANDA TRACHEA ANATOMİSİ

Makroskobisi : Sıçan trachea'sı insan trachea'sı ile çok fazla benzerlikler gösterir.

İlk kıkırdaktan trachea'nın primer bronşlara ayrılma yerine kadarki uzaklık yaklaşık olarak 33 mm.dir. Yukarıda larinks'e ait krikoid kıkırdağın hemen altından başlar. Boynun alt parçasından, thorax'ta üst mediastinuma uzanır. Burada sağ ve sol ana bronşlara ayrılır(7).

Trachea'nın dışarıdan bakmakla görülebilen 24 kadar kıkırdak halkası vardır. Bu kıkırdak halkalar at nalı veya C-harfi şeklindedir. C harfi veya at nalı şeklinde olan bu kıkırdak halkaların boş kalan arka kısmında transvers durumda düz kas lifleri uzanır. Bu kasın kasılması ile trachea çapı küçülür (Pariet membranaceus).

Çok sert bir yapısı olmadığı için solunumla ve postural hareketlerle yer değiştirebilir. Erişkin ve yaşlı sıçanlarda kıkırdak doku kalsifiye olduğundan esneklik azalır.

Transvers kesitlerde tracheal lümen yassılaştırmış oval şekildedir. D harfine de benzetilir. Lümen çapı 3 mm kadardır ve duvar kalınlığı da 1 mm dir.

Komsuluğu : Solunum yolunun larinks'ten sonra gelen kısmı düz boru şeklindedir ve yalnız solunumla ilgilidir. Boyun parçasında önde tiroid bezi hyoid altı kasları ve fascia colli superficialis ile komşudur. Yanlarda ise tiroid bezinin yan lobları ve a.carotis com-

munis ile komşuluğu vardır. Arkada oesophagus ile komşudur ve oesophagus ile trachea arasındaki oluktan n.laringeus inferior geçer.

Trachea'nın torakal parçası arka mediastinumda bulunur. Bu parçası önde timus artıkları, truncus brachiocephalicus, a.carotis communis sinistranın başlangıç kısmı ve vena brachiocephalica sinistra ile komşudur. Bifurcatio yerinde ise arcus aortanın bir kısmı tracheanın ön yüzü ile temastadır.

Histolojisi : Başlıca şu tabakalardan meydana gelir :

- 1- Tunica mucosa
 - a- Epitel tabakası
 - b- Lamina propria
 - c- Tunica submucosa
- 2- Kıkırdak tabakası
- 3- Tunica adventitia

Epitel daha alçak seviyelerde üst seviyelere göre belirgin olarak daha incedir (Jeffery ve Reid, 1975). Epitel tabakası çeşitli tipte hücrelerden meydana gelir. Bunlardan yalnızca 3 tipi ışık mikroskobu ile görülebilir. Aslında tek katlı epitel olmasına karşın, çekirdeklerin farklı seviyelerde olmasından dolayı çok katlı gibi görünür (Yalancı çok katlı epitel). Işık mikroskopunda görülebilen hücre tipleri :

- 1- Cilia'lı hücreler : Apikalinde cilia'ları olan uzun, silindirik hücrelerdir. Elektron mikroskop ile bakıldığında mikrovillusları da görülür. Cillerin uzun-

luğu 50 μ m.dir. Epitel hücrelerinin % 35'i bu gruptandır. Cilia'lı hücrelerin sayısı büyük memelilerdekine göre daha azdır.

2- Goblet hücreleri : Kalisiform hücreler de denir. Kadehe benzer, mukus salgılayan hücrelerdir. Tüm epitel hücrelerinin % 9.3'ü bu gruptandır.

3- Basal hücreler : Basal lamina üzerinde oturan, lümeneye ulaşamayan hücrelerdir. Küçük ve piramidal hücrelerdir. Diğer hücreler için prekürsör özellik taşıdıklarından "Stem-cell hücreler" olarak da bilinirler. Tüm epitel hücrelerinin % 24.2'si bu gruptandır.

Bu hücreler dışında, elektron mikroskop ile saptanabilen ve trachea epitel hücrelerinin % 30.9'unu oluşturan hücreler vardır. Bunlar :

1- Fırça hücreler : Uzun ve mikrovilluslu hücrelerdir. Fonksiyonları kesin olarak bilinmemektedir. Bu hücreler koku mukozasındaki ve intestinal sistem epitelindeki fırça hücrelerle benzerlik gösterir. Bu hücrelerin duyu özelliği taşıdıkları da bilinir.

2- Argyrophilic hücreler : Bu hücreler gastro-intestinal sistemdeki argentaflin (veya APUD- amine precursor uptake and decarboxylation) hücreler ile benzerlik taşır. Bazıları lümeneye ulaşamayan hücrelerdir. Hepsi küçüktür. Sekretuar granüller içerirler. Bu granüllerin çapı 100-300 μ m. dir.

3- Silindirik hücreler : Uzun hücrelerdir. Bazılarının apikalinde mikrovilluslar bulunur. İleride cilia-

lı hücrelere veya goblet hücrelerine dönüşebilen hücrelerdir.

Epitelde bu hücreler dışında lenfositler görülür.

Trachea'nın lamina propria'sı incedir ve elastik fibriller içerir. Elastik fibrillerin çoğu longitudinal olarak uzanır. Lamina propria'da küçük gruplar halinde lenfositler, endositatik aktiviteyi sağlayan mast hücreleri (Spicer, 1980), lenf follikülleri ve çok seyrek olarak tek tük bez yapıları gözlenir.

Kıkırdak tabakası hyalin kıkırdak yapısındadır. Oldukça dayanıklı ve diffüzyon ile beslenen bir yapısı vardır. Sıçan yaşlandıkça bu kıkırdak kalsifikasyonu uğrar.

Tunica adventitia ise trachea'yı çevre dokulara bağlayan gevşek bağ dokusu özelliği taşır.

GEREÇ - YÖNTEM

Bu çalışmada kullanılan kimyasal madde olan formaldehitin beklenen toksik etkilerini gözleyebilmek, bireysel ve çevresel faktörlerin farklılığı nedeni ile ortaya çıkabilecek etkileri en aza indirgeyebilmek amacıyla deney hayvanı sayısı yüksek tutulmuştur. 50 tane dişi ve 50 tane erkek beyaz sıçan (*rattus albinus*) ve 10 dişi, 10 erkek beyaz fare farklı yaş grubundan olmak üzere kullanılmıştır. Deneyde kullanılan hayvanlar E.Ü. Deney Hayvanları Merkezi ve Tarım Bakanlığı Veterinerlik Araştırma Enstitüsü'nden temin edilmiştir.

Hayvanlar bu merkezlerden alındıktan sonra 24 saat aç bırakılıp, teker teker tartıldılar. Bu hayvanlar haftalarına göre de 6-10 haftalık, 10-16 haftalık, 16-20 haftalık, 20-24 haftalık ve 24 haftalığın üzerinde olmak üzere gruplandırıldılar. Bu gruplamaya göre sıçanlar ve fareler işaretli kafeslerine yerleştirildi. Her gruba ait özellikleri taşıyan 2'şer sıçan karışmayacak şekilde işaretlenip kontrol grubu olarak ayrıldı. Kafeslerin karışık cinsiyette hayvan içermesine de dikkat edildi.

Tüm sıçanlar ve fareler deney boyunca standart diyet ve su ile beslendi. Oda ısısı 18-20 °C altına inmeyecek şekilde devamlı kontrol edildi ve sabit tutulmaya çalışıldı.

Deney hayvanlarını formaldehit gazına ve ortama alıştırmak amacıyla başlangıçta düşük düzeyde inhalasyon

yaptırıldı. 5 gün süresince bu doz giderek arttırılarak sıçanların ortama uyumu sağlandı. Bu alıştırma döneminde uygulanan dozaj ve süresi :

I. gün	% 10 formaldehit.....1 saat
II. gün	% 10 formaldehit.....2 saat
III. gün	% 10 formaldehit.....2,5 saat
IV. gün	% 10 formaldehit.....3 saat
V. gün	% 10 formaldehit.....4 saat

Bu alıştırma döneminden sonraki haftada deneyimiz başladı. Deney süresi haftada 5 gün 4 saat olarak saptandı. Formaldehit inhalasyonu yaklaşık 3 m³ lük, üç yüzü camkanlı, bir kapısı ve bir bacası olan bir ortamda uygulandı. Bu düzenegin dış ortamdan iyice yalıtılmış olmasına dikkat edildi. Gazı akciğer alveollerine kadar gidebilecek küçüklükte partiküllere ayıran düzenekte % 10 formalin solüsyonu 60 ° C ye kadar ısıtıldı. Deney sırasında ortam ısısının 30 °C nin üzerine çıkmasına özen gösterildi.

Testin uygulama süresi olan 4.saatin sonunda düzenek temiz hava akımına tabi tutuldu. Bacası ve kapısı açılarak gelecek uygulama saatine dek havalandırıldı. Her uygulamadan önce ısının tekrar 18-20 ° C ye çıkarılmasına özen gösterildi. Testin uygulanmadığı sürece hayvanlar normal atmosfer havasını soludular. Test süresi 8 hafta olarak belirlendi. Deney sırasında ve deneyin bitiminden 4 saat sonrasına kadar ölen hayvanların makros-

kobik organ bulguları ölüm nedeni hakkında fikir edinebilmek amacıyla incelendi. Her haftanın bitiminde ise 5 deneme sıçanının her gruptan 1 adet olmak üzere kesilmesi amaçlandı. Solunum yollarının bütünlüğünün bozulmaması amacıyla dekapitasyon işlemi uygun görülmedi. Ayrıca burun ve üst solunum yolu epiteline inhalasyon anesteziğinin direkt lokal etkisini düşünerek eter ve benzeri anesteziğler kullanılmadı. 3-5 cc. pentotal Na enjekte edilerek hayvanlar bayıltıldı. Her 5 günlük uygulama sonunda 5 adet sıçanın tracheaları ve daha sonra incelenmesi düşünülen diğer bazı organları alınması amaçlandı. Beyaz sıçanların 6 tanesi deney sırasında veya deneyden sonraki ilk 4 saat içinde öldü. 44 sıçan ise gece öldüğü için kesin ölüm zamanları saptanamadığından deneyden çıkarıldı. Farelerde ölüm oranı daha düşük idi. 10 deney faresinden 5 tanesi gece öldü ve bunlar da deneyden çıkarıldı. Deney sırasında ise ölen fareye rastlanmadı. Kalan 5 adet fare ise 1,3,4,6 ve 8. haftalarda kesildi. Yine Na pentotal ile bayıltılarak tracheaları ve diğer organları alındı. Hayvanlar bayıltıldıktan sonra deri ve deri altı dokusu, kas dokusu kaldırılarak tracheaları çıkarıldı. Tamponlanmış % 10 formaldehit solüsyonunda parçalar tespit edildi. Tracheanın 1/2 üst yarısından parçalar alındı. Rutin tampon yıkamalarından sonra yükselen alkol serileri ve ksilolden geçirilerek parafine gömüldü. Parafin blokla-

ra gömülen parçalardan ışık mikroskopunda incelemek amacıyla 4-5 mikronluk kesitler yapıldı. Kesitlere Hematoksilen Eosin ve Alcian Blue- PAS boyaları uygulanıp ışık mikroskopunda incelendi.



GÖZLEM

Her gün deneye başlamadan tüm hayvanların sağlık kontrolleri yapıldı. Gece ölmüş olan hayvanları mukozalarının dökülme olasılığı göz önüne alınarak değerlendirilmelerinin dışında tutuldu.

Formaldehit inhalasyonunun ilk 30 dakikasından itibaren hayvanlarda hareketlenme, hiperaktivite, huzursuzluk, burun , ağız ve göz çevresini, boyunlarını el ve ayakları ile kaşıdıkları gözlendi. Ayrıca kafeslerinin zemininde bulunan talaşa gömülme isteği dikkati çekti.

Deneyden sonra ilerleyen haftalarla orantılı olarak hayvanlarda solunum güçlüğü, hırıltılı nefes alma (wheezing), hiperventilasyon, gözlerde kızarıklık ve sulanma, donuk bakışlılık, harekette isteksizlik, ses kıskıklığı, boğuk ses çıkarma, iştahsızlık, gürültü ve temas ilgisizlik arttı.

3.günden itibaren belirgin burun akıntısı saptandı. İlk 2 hafta boyunca seröz, akışkan, şeffaf görünümde bir sekresyon hakim iken, 3.haftadan sonra müko-pürülan, sarıyeşil, iltihaplı bir sekresyon izlendi. Burun akıntısından smear alınarak mikroskopta incelendi. İlk haftalarda bazı sıçanlarda tek tük görülen burun kanamaları giderek hem sıçan sayısı, hem de kanamanın miktarı bakımından arttı. Sıçanlarda burun kanamaları ve kaşınmaya bağlı burun delikleri etrafında kabuklar oluştu (Resim 2). Dil her zaman kuru, ödemli ve yüzeyi pürtüklü olarak

gözlendi.

Beyaz sıçanların 2.günden itibaren tüylerinde parlaklık azalması ve matlaşma izlendi. 1.hafta sonunda tüyler kanarya sarısı rengini aldı (Resim 2). 2.hafta sonunda bu sarı rengin daha da artması ile beyaz sıçanların tüy rengi yumurta sarısına döndü (Resim 3,4). 4.haftadan sonra ise beyaz sıçanların tüylerinde dökülme başladı. Bu dökülme son haftalara doğru giderek belirginleşti ve tüyler seyrekleşti.

Farelerde ise renk değişimi olarak hafif bir grileşme ve seyrekleşme olarak gözlendi. 5.hafta sonunda tüyleri yok denecek kadar azaldı, pamuksu bir hal aldı. Deri altı damarları iyice izlenir hale geldi (Resim 5).

Farelerde gözlenen bir başka bulgu, ölümlerinden sonra karın içinde görülen transüda tipinde asitin varlığı idi. Toraks boşluğunda da bu tipte sıvının varlığı tespit edildi.

Formaldehitin gerek akut allerjik, gerekse kronik toksik etkileri sonucu sıçanlarda farelere göre daha fazla ölüme rastlandı. Fare ve sıçanların spontan ölüm oranları şöyle idi :

Total	Test Sırasında veya Testten Sonraki 4 saat içinde
Sıçan....55.5 (%)	6.7 (%)
Fare.....50 (%)	

Ölümler daha çok testten sonraki ikinci 4 saatlik

period içinde oldu. Ayrıca solunum yolu epitelinin tam direnç kazanmadığı 6-10 ve 10-16 haftalık sıçan gruplarında ölüm oranı daha fazla idi.

Bunların yanında cinsiyet farklılığına bağlı olarak ölen tüm sıçanların % 76'sı dişi, % 24'ü ise erkek olarak saptandı. Fareler ise cinsiyet yönünden belirgin bir farklılık olup olmadığını gösterecek yeterli sayıda değildi.

Test sırasında veya testten sonra ölen sıçanların yapılan makroskopik incelemelerinde, çoğunun akciğerlerinin açık pembe-soluk renkte, ödemli, yer yer hemorajik sahalarla karakterize olduğu dikkati çekti. Normalden daha büyük ve ağır olan akciğerlerin üzerine parmakla basılınca akciğerler çukurlaşıyordu. Akciğerler üzerindeki costa izleri ödeme bağlı olarak çok belirgindi. Kendiliğinden ya da sıkıştırıldığında sulu, köpüklü, açık pembe bir sıvının varlığı dikkati çekiyor ve bu da ödemi destekliyordu.

Testin 5.haftasında 2,6.haftasında 1 sıçanda deri altı amfizemi ortaya çıktı.

Test süresince dişi ve erkek sıçanları aynı kafese koyduk. Amacımız formaldehit inhalasyon testi sırasında meydana gelen gebeliklerin sonucunu izleyebilmektir. Ancak test sırasında hiç bir gebeliğe rastlanmadı. Bu durumun erkek sıçanlarda libido azalmasına, belirgin glans penis iltihabına (balanitis) ve dişi sıçanlardaki uterus

dokusunu zedeleyici etkisine bağlı olabileceği düşünöldü. Gebelik araştırması, sıçanların ölüminden sonra uteruslarının açılıp makroskobik olarak gözlenmesi şeklinde yapıldı.

Fareler sıçanlarla aynı ortamda formaldehit inhale etmelerine karşın toksik etkilere daha dirençliydiiler. Yukarıdaki bulgular daha minimal olarak farelerde de gözlendi.

Histopatolojik Bulgular :

Sıçanlar kesildikten veya deney sırasında öldükten sonra göğüs ön duvarı açıldı. Tracheanın 1/2 üst parçası normal rutin tespit solüsyonlarından geçirildi ve hematoksilen eosin, Alcian Blue-PAS boyaları ile boyanarak ışık mikroskobunda incelendi.

Kontrol grubundaki deney hayvanlarında tracheanın epitel tabakası, lamina propriası, kıkırdak tabakası ve adventita tabakası küçük büyütme ile incelendi ve normal görünümde olduğu gözlendi (Resim 6,7). Aynı hayvanların tracheaları büyük büyütme ile incelendiğinde apikalinde siliaları bulunan silindirik hücreler net olarak seçildi. Ayrıca epitelde mukus salgılama görevi olan goblet hücrelerine (Caliciform hücreler) rastlandı (Resim 6,7). Bu hücreler kadeh şeklinde gözlendi. Epitel altı dokularda damarlar ve kıkırdak yapısı normal görünümdeydi.

Deneme gruplarında ise daha ilk haftadan başlamak üzere histopatolojik bulgulara rastlandı. Bunlar akut

iltihap bulguları, ülserasyon ve daha ileri epitel değişiklikleri idi.

I. ve II. haftaların sonunda trachea mukozasında ülserasyonun eşlik ettiği akut yangı bulguları gözlemlendi. Diğer bir deyişle nekrozlu iltihap saptandı. Patolojik olarak izlenen en belirgin özellikler damar değişiklikleri ile birlikte polimorf nüveli lökositlerin ön planda olduğu exuda idi (Resim 8,9). Trachea mukozasındaki damarların vazodilatasyonu formaldehitin direkt dokuya kimyasal etken olarak etkisinden ve doku içine yayılmasından ileri gelir. Ayrıca incinen dokudan açığa çıkan histamin, serotonin, plasmin ve kallikrein gibi kimyasal ajanlarla akson reflexi sorumlu tutulabilir.

2.haftada gözlenen diğer önemli bir bulgu ise yine akut yangının bir belirtisi olan ödemin varlığı idi. Vazodilatasyon ve stoz sonucu kanın hidrostatik basıncının artması, permeabilitenin 3-5 kat artış göstererek doku içine arteriyel uçtan su, kristaloid proteinlerin interstisyel aralığa geçmesi ve bunların venöz uçtan reabsorbe edilememesine bağlı olarak interstitiel dokuda ödem farkedildi (Resim 10,11). Ödemin bir diğer açıklaması da formaldehitin endoteli zedeleyici etkisi olabileceğidir. Bu zedelenme sonucu damar duvarlarında protein kolloidlerine karşı geçirgenlik artar. Proteinlerin, kapiller ve venül duvarlarından diffüzyonla çıkması plazma ozmotik basıncını azaltırken, interstisyel sıvı ozmotik basıncının artmasına neden olur, her iki durum da ödemi

kolaylaştırır.

Plazmanın damar dışına çıkması ile kanın akıcılığı azaldı, kanın hemokonsantrasyonu arttı. Eritrositler biraraya gelerek damar lümeni ortasında toplandı (Resim 8).

III. ve IV.haftaların sonunda alınan kesitlerde akut yangı belirtilerinin şiddetlendiği ve ülserasyonun devam etmekte olduğu gözlemlendi. Kan hidrostatik basıncı giderek arttığı için eritrositlerin endotel hücrelerinden herhangi bir dirençle karşılaşmadan damar dışına çıktıkları, konjesyonun arttığı, polimorf nüveli lökositlerin kıkırdağa dek dayandığı ve ödem içinde yangı hücreleri bulunduğu gözlemlendi (Resim 12,13).

V. ve VI.haftalarda ödemin ortadan kalktığı, ancak yoğun polimorf nüveli lökosit infiltrasyonunun ve ülserasyonun devam ettiği gözlemlendi (Resim 14).

VII.hafta sonunda alınan kesitlerin bazılarında tek sıralı bir epitelin varlığı dikkati çekti (Rejenere epitel) (Resim 15,16,17). Rejenere epitel, zarar gören epitel dokusunun hücre proliferasyonları ile tamire ve dokunun normal yapı ve fonksiyonlara dönmeye çalışması şeklinde açıklanabilir. Tamir olayı organizmanın korunması ve sağlığı bakımından çok büyük önem taşır. Bu tamir, iltihap olayı ile yakından ilgilidir ve iltihap geçtikten sonra zarar gören doku tamir edilinceye dek devam eder.

Bu haftalarda özellikle daha yaşlı sıçanlarda rejenere epitele rastlanmadı. Bu hayvanlarda ülserasyo-

nun halen devam etmekte olduğu ve ağır akut yangı bulguları izlendi. Rejenere epitele ise daha genç sıçanlarda rastlandı.

VIII.hafta sonunda alınan kesitlerin bazılarında squamöz metaplaziye rastlandı (Resim 18,19,20,21,22). Burada karşılaşılan squamöz metaplazi yeni fonksiyonel gereksinmeler sonucu organizmada meydana gelen bir adaptasyonu yansıtır. Solunum epitelinde gözlenen bu yassı epitele dönüşme kronik uyarının bir sonucudur. Metaplazinin oluşma şekli normalde erişkin organizmada mevcut olan rezerv hücrelerin gizli gelişme potansiyellerinin olgun hücre tiplerine farklılaşması ile ifade edilebilir. Yani metaplazi organizmanın koruyucu bir yanıtını yansıtır. Böylece psödostratifiye titretilmiş tüylü epitelin yerini alan yassı epitel, iltihaba ve zedelenmeye daha dayanıklıdır. Ancak bunun organizma için bir sakıncası vardır. Çünkü mukus salgılayan goblet hücrelerinin ve prizmatik epitelin kaybı organizmada yabancı partiküllerin ve mikroorganizmaların tutulmasına neden olur.

Deneye katılan tüm farelerde de akut yangı bulgularına ve ülserasyona rastlandı. Ancak fare trachea mukozalarında squamöz metaplaziye ve daha ileri epitel değişikliklerine rastlanmadı.

SIÇANLARDAKİ ÖLÜM ORANININ DEĞERLENDİRİLMESİ

	Başlangıçtaki Toplam Siçan Sayısı	Test Sırasında veya Testen Sonraki 4 saat İçinde Ölen Siçan Sayısı	Gece Ölen Toplam Siçan Sayısı	Grubun Ölüm Oranı	Ölen Tüm Siçanlara Göre Gruptaki Ölüm Oranı
1.Grup	18	3	13	% 88.9	% 32
2.Grup	18	3	13	% 88.9	% 32
3.Grup	18	---	8	% 44.4	% 16
4.Grup	18	---	2	% 11.11	% 4
5.Grup	18	---	8	% 44.4	% 16

BULGULARIN HAFTALARA GÖRE DAĞILIMI (%)

BULGULAR		1.Hf	2.Hf	3.Hf	4.Hf	5.Hf	6.Hf	7.Hf	8.Hf
A k u t Y a n g ı	Ödem		40	25	40				
	Fibrin	40	60	50	20	20			
	Yüzeyde PNL* infiltrasyonu	100	100	50					
	Kıkırdağa dek PNL* infiltrasyonu			50	100	100	100	40	25
	Konjesyon	100	100	100	100	100	100	100	100
** Ü l s	Fokal							60	41.7
	Yaygın	100	100	100	100	100	100	40	58.3
Rejenere Epitel								40	8.3
Squamöz Metaplazi									33.3

* PNL : Polimorf nüveli lökosit

**Üls : Ülserasyon

TARTIŞMA

Cosma ve Marchok (23), çevresel karsinojen olan benzopyrene ve formaldehitin hücre büyümesi ve DNA üzerine zararlı etkilerini rat trachea epitelinde araştırdılar. Bu araştırmacılar gerek tek tek, gerekse kombine uygulamaları halinde, her iki ajanın da DNA yapısında zararlı etkileri olduğunu gösterdiler. Karışımın uygulaması büyüme indexini kontrol gruba ait değerlerin % 75 ine kadar azalttı.

Rusch ve arkadaşları (64) sıçan, domuz, tavşan, köpek ve maymunlarda 90 gün formaldehit inhalasyonu ile oluşan değişiklikleri gözlediler. Kilo azalması, tüylerinde sararma ve grileşme gibi ortak bulgular saptadılar. Histopatolojik incelemelerde ise rinitis, sinuzitis, squamöz metaplazi ve bazal hücre hiperplazisini gösterdiler. Çalışmalarında formaldehit inhalasyonuna en fazla yanıt veren grup sıçanlardı.

Zwart ve arkadaşları (88) sıçan nasal mukozasında formaldehitin sitotoksik ve diğer etkilerini 6 saat/gün 5 gün/hafta olarak düşük konsantrasyonlu inhalasyon ile 3 gün-13 hafta boyunca H^3 thymidin enjeksiyonu yapıp ışık ve elektron mikroskobunda incelediler. Işık mikroskobunda hiperplazi, keratinizasyon, cilia kaybı, irregular şekilli silindirik mikrovillusların varlığı yüzeyde rinitis, sinuzitisi belirgenleştiren mononuclear lenfositlerde (MNL) hücre infiltrasyonu saptadılar. Hatta

çok kısa sürede bile (3 gün) lokal olarak bazal hücre hiperplazisi ve cilia kayıpları gözlediler. Elektron mikroskobu ile yapılan daha ileri incelemelerde ise bulguların aşikarlığı ortaya çıktı. Mikrovilluslu ve mikrovillussuz irregular hücreler gösterildi. Epitel hücreleri arasında eritrositler ve bazal membrana yerleşmiş proteinokazeoz glubulinler gözlendi. Epitel hücrelerinde mitoz ve goblet artışı vardı. Bulguların solunum yolunun daha alt kısımlarına gidildikçe azaldığını gösterdiler.

Casanova ve arkadaşları (19) 344 sıçanla formaldehit inhalasyonunun DNA yapısına olan etkilerini incelediler. Bu çalışmayı uygularken, DNA ve formaldehit analizini yüksek performans kromatografik sıvı ve farmakokinetik maddeler kullanarak yaptılar. Formaldehit inhalasyonu sonrası DNA protein yapılarında kırılmalar olduğu gözlendi. Bir başka çalışmalarında (20) nasal exudada protein ve nükleik asit seviyelerinin azaldığını gösterdiler. Ayrıca DNA yapımının %48 oranında azaldığını izlediler. Formaldehit konsantrasyonu arttıkça [H^3] thymidinle işaretlenmiş mukoza hücrelerinin DNA, RNA ve proteinlere karşı spesifik aktivitelerinin arttığı, hücredeki miktarlarının ise azaldığını gördüler. Formaldehit temelde DNA ile reaksiyona girer ve hücrenin savunma mekanizmalarını bozarak direncin düşmesine neden olur. Ayrıca hücre proliferasyonu denetimsiz bir hal al-

dığından kanser olduğunu bildirdiler.

Mitsutoshi Shiba ve arkadaşları (71), % 0.1 lik formaldehit ile 865 ug.lık benzopyrene balmumu pelletlerinden salınan benzopyrein etkilerini rat tracheası implantlarında incelediler. Sitopatolojik teşhis için, yaptıkları luminal yıkamalarla lümene dökülen hücreleri topladılar. 30 hafta sonunda trachea mukoza epitelinde yoğun squamöz metaplazi, yüksek düzeyde atipik epitel saptadılar.

Ballenger (8) 232 sıçanla 30 aylık formaldehit inhalasyon çalışması yaptı. Tüm sıçanlarda nasal karsinoma saptadı. 22 saat/gün ve 7 gün/hafta düşük dozda formaldehit varlığı sıçanlarda 26 haftada metaplazi geliştirdi. Ayrıca nazal mukoza kültürlerinde formaldehitin DNA hasarına yol açarak mutajenik bir ajan olduğunu gösterdi. Bunun dışında formaldehitin solunum hızını azaltıcı etkisi olduğunu saptadı.

Kerns ve Fischer (47), 120 dişi- 120 erkek sıçanla ve C₅₇ BL/6 x C₃ HF₁ farelerle çalıştı. 6 saat/gün ve 5 gün/hafta süreyle formaldehitin nasal mukozasındaki ve proksimal trachea'daki etkilerini inceledi. 6,12,18, 24 aylık gruplarda inceleme yaptı. Tüm sıçanların 6 ayı izleyen zaman periodunda nasal kavite ve proksimal trachea'larında formaldehite bağlı lezyonlar gördüler. Bunlar pürülan rinitis, squamöz metaplazi, bazal hücre hiperplazisi, displazi ve 103 sıçanda nasal karsinoma oluştur-

dular. Squamöz metaplazi, stratum germinativum ve stratum spinosum ile stratum corneumun varlığı ile karakterize idi. Keratin yalnızca squamöz metaplazi alanlarında mevcut idi. Nasal tümörler daha çok ön kısımlarda görüldü. Solunum yolunun daha ileri bölgelerine gidildikçe azaldığını saptadılar. Farelerde bu bulgular sıçanlara göre daha ılımlı olarak izlendi. Ayrıca bu araştırmacılar gözlemlerinde sıçanların tüylerinin sarardığını ve vücut ağırlıklarında azalmalar olduğunu saptadılar. Gebeliğe rastlamadılar. Bunu formaldehitin mukozalar üzerindeki kronik allerjik etkisine bağladılar. Bu allerjik etki erkek sıçanlarda glans penis iltihabı (balanitis), pürülan glans penis-ürethra iltihabı, prostat iltihabı ve seminal vesicul iltihabı oluşturdu. Bunlar dışında formaldehitin mutagenik ve genotoksik etki ile hücre çoğalmasını arttırdığını ve bunu yaparken DNA hasarı ile mutasyon ve neoplastik transformasyonu provoke ettiğini savundular. Ayrıca formaldehit glikoprotein içeriği olan yüzeyel jel fazının hareketini durdurur. Böylece mukus akışı azalır. Ciliastatik etkisi nedeniyle de mukus akışı tamamen durur. Böylece ciliaların savunma etkisini ortadan kalkar ve direnç düşer.

Vaughan ve arkadaşları (80,81), formaldehitli ortamda çalışanlar üzerinde oro-faringeal ve hipofaringeal kanser araştırması yaptılar. Bu vakalarda değişik oranlarda iltihabi yanıtlar, squamöz metaplazi, adenokarsinom, lenfoma saptadılar.

Holmström ve arkadaşları (45) formaldehitli maddelerle çalışan mobilya işçilerinin solunum mukozalarında ki histolojik değişiklikler üzerinde çalıştılar. Lokal anestezi altında rinoskopi yardımı ile biopsiler aldılar. Histopatolojik incelemeler sonunda mukozada cilia kaybı, goblet hücre hiperplazisi, metaplazi, displazi saptadılar. Bunun yanında şiddetli epitel displazisi ve karsinomaya da rastladılar. Ayrıca sigara içmek, yaş gibi bireysel farklılıklarında sonuçları etkilediğini gördüler. Sigara içenlerde sitotoksik olayın belirtilerine daha erken ve daha sık rastlandığını gösterdiler.

Wilmer ve arkadaşları (87), erkek sıçanlarda subkronik olarak 13 haftalık bir süre içinde 8 saat/gün , 5 gün/hafta süre ile formaldehitin gaz inhalasyonunun etkilerini incelediler. Nasal mukoza histopatolojik bulgularını oldukça zengin olarak buldular. Bazal hücre hiperplazisi, belirgin nekroz, squamöz metaplazi, keratinizasyon, goblet hücre hiperplazisi ve rinitisin fokal, diffuz olarak bulunduğunu gösterdiler. Epitel yenilenmesinin normalin 3 katına çıktığı görüşüne vardılar.

Hastie ve arkadaşları (39) formaldehit inhalasyonundan sonra nasal silier epitelin fonksiyon değişikliğini incelediler. Formaldehit inhalasyonu sonrası cilier aktivitenin ve mukocilier klirens komponentlerinin azaldığını gösterdiler. Mukocilier klirensin azalması mukusun akışkanlığını ve mukocilier aktiviteyi etkileyerek viskoelastisiteyi bozdu. Buna bağlı olarak ciliastasis

oluşturdu. Hızlı formaldehit inhalasyonuna yanıt olarak, mukus oluşumu ve silier aktivitede bozukluk meydana geldi. Sonra ise silier aktivitede onarılma gördüler. Yani silier aktivitenin bozulması reversibl bir durumdur. Inhalasyonun 30.dakikasında mukostatis ve ciliastasis oluşumunu gördüler. Daha ön alanlarda bu etki 1-18 saatte geriye dönerken, geri bölgelerde 6 saatten önce geriye dönüş görülmedi. Hastie ve arkadaşları buna şu açıklamayı getirmişlerdir :

1- Cilier aktiviteye direkt etki : Eger reversibilite yok ise bu hücre ölümünün en erken belirtisidir. Cilier aktivitede fonksiyon bozukluğu hücre ölümünün en erken belirtisidir.

Protein elektroforez bantlarıyla cilier axonom ve protein konsantrasyonu belirgin olarak azalır. Azalmış dynein, ATP ase aktivitesini azaltır ve sonuçta silier fonksiyon azalır. Böylece formaldehit mukusun bir takım salgılanım ve koruyucu mekanizmalarını etkiler.

2- Mukus Yapısını Değiştirme Etkisi : Inhalasyon sonrası mukusun yüzeyde bir arada birikmiş veya yüzen adalar şeklinde çözülmemiş parça kalıntıları halinde olduğu görülür. cilier akış ve çarpma hızı % 15 oranında azalır ve bu da mukus transportunu etkiler. Burun mukozası yüzeyinde DNA'ya ait protein kalıntıları azalır.

Chang ve arkadaşları (21), B₆ C₃ F₁ fare ve F₃₄₄

sıçanlarda formaldehit inhalasyonunun yarattığı etkileri H³ thymidin varlığında saptadılar. Bu araştırmacılar etkilenen ilk organın nasal kavite olduğunu gösterdiler. Bu inhalasyon sonrasında mukoza fonksiyonlarını tam olarak yerine getiremez oldu. Histopatolojik incelemede doku hasarında artış, aktif doku tamiri ve hiperplastik değişiklikler saptadılar. Hücre proliferasyonunun inhalasyondan sonraki ilk 6 saatle başladığını gösterdiler. İlk saptanan bulgular arasında, nekrobiotik epitel hücrelerinde koyu sitoplazmik inklüzyon cisimcikleri ve lizozomların belirginleşmiş varlığı, erken hiperplazi vardı. Şiddetli dejenere olmuş hücreler, fokal neutrofilik infiltrasyonlar ve epitelde izole yassılaştırmalar da saptadıkları diğer bulgulardı.

Klein ve arkadaşları (49), ise genç erişkin otoposilerinden elde edilen nasal respiratuar epitel hücrelerini ratların trachealarına implante ederek çalıştılar. Bu Xenotransplantasyondan 4 hafta sonra formaldehit inhalasyonuna başladılar. Aldehidin hem erozyon ve atrofik epitel gibi hacimsel kayıp ile karakterize epitel bulgularına, hem de hiperplastik ve metaplazik lezyonlar gibi proliferatif reaksiyonlara neden olduğunu gösterdiler. Bu bulgular formaldehit inhalasyonundan sonraki 2 haftada gözlenmeye başladı.

Berke (12), formaldehitli çalışma ortamında işçilerin nasıl etkilendiğini araştırdı. 36-60 yaşındaki vakaların yaş ortalaması 44,5 idi. Formaldehitli bir

ortamda 16-17 yıl çalışmışlardı. İşçilerin nasal kavite epitelinde squamöz metaplazi ve atipik metaplaziye % 36 oranında rastlandı. % 7 oranında nasal polip gözlemlendi. Bu çalışmada bireysel farklılıkların büyük farklılık yapabileceği de belirtildi. Nasal mukozada eritem, ödem ve fissur en sık rastlanılan bulgulardı. Bu bulgular sigara içenlerde daha fazla ve daha şiddetli olarak gözlemlendi. Karsinomanın ön basamaklarından olan squamöz metaplaziye de rastlandı.

Edling ve arkadaşları (29), yine formaldehitli ortamlarda çalışan işçiler üzerinde çalıştılar. Nasal mukozaya ait histopatolojik incelemelerde cilia kaybına ve goblet hücre hiperplazisine (%11), squamöz metaplaziye (%78), orta derece displaziye (%8) oranında rastlandı. Aynı araştırmacılar bu bulguları experimental olarak hayvanlar üzerinde de gösterdiler. Karsinom öncesinde gözlenen ve squamöz metaplaziye kadar varan bulguların geri dönülebilir (reversibl) olduğunu vurguladılar. Karsinogenik ve metaplazik değişikliklerin DNA yapısında meydana gelen değişikliklerden olabileceğini savundular. Bu değişikliklerin (özellikle non-neoplastik olanların) sigara içenlerde daha belirgin olduğunu ve daha erken ortaya çıktığını kanıtladılar.

Feron (32) ve arkadaşları, Wistar tür erkek sıçanlarda formaldehit inhalasyonunu 6 saat/gün, 5 gün/hafta süre ile 4,8 ve 13.haftalarda nasal mukozada oluşan histopatolojik değişiklikleri incelediler. 13.haftanın so-

nunda 6/132 oranında nasal tümör gördüler. Bu tümörlerin 3'ü squamöz, 1 i karsinoma in situ, 2 si polipoid adenom olarak tiplendirildi. Ayrıca non-neoplastik bulgulara da rastladılar. Bunlar arasında iltihabı reaksiyon, hiperplazi, squamöz metaplazi, hücrelerde kalınlaşma hem olfaktorial hem de respiratuar epitelde görüldü.

Burian ve arkadaşları (17) da formaldehitte çalıştılar. Kısa süreli formaldehit inhalasyonunun koku epitelinde hiç hasar yapmadığını ama respiratuar epitelini tahrip ettiğini, bol granülosit içeren fibrin tabakası ve tek tük metaplazik epitele rastladıklarını belirttiler. Normalde 20-30 mikron kalınlıkta olan titrektüylü epitel 120 mikron kalınlığa ulaştığını saptadılar (Epitel hipertrofisi ve epitel hiperplazisi). Uzun süreli inhalasyonda ise belirgin metaplazi ve bol mukus içeren hipertrofik silindirik epitel gözlemlendi.

Yine Burian ve arkadaşları (18), inhale edilmiş formaldehitin sıçan nasal mukozasında etkisini ve dejenereasyonunu incelediler. Basise yakın duran çok koyu çekirdekli hücreler gördüler. 8-10 haftalık bir dinlenme periodu sonrasında titrektüylü silindirik epitelin metaplazik epitel yerine geçtiği gözlemlendi. Bu geriye dönüşü solunum epitelinde gözlerken, koku duyusu epitelinde saptayamadılar.

SONUÇ

Bu çalışmada, formaldehitin değişik yaşlarda (6-24 hafta) dişi ve erkek beyaz sıçan ve beyaz farelerde inhalasyon yolu ile trachea mukozasında meydana getirdiği değişiklikler incelenmiştir. Şu sonuçlar elde edilmiştir :

Beyaz farelerin deneye daha dayanıklı olduğu, daha uzun süre yaşadıkları ve ölüm oranlarının daha düşük olduğu gözlemlendi. Ancak deneyde kullanılan beyaz fare sayısı, beyaz sıçan sayısına göre oldukça düşük olduğundan, bunun literatür bilgilerince desteklenmesi esas alındı.

Beyaz sıçanların en genç ve en yaşlı olanları deneye daha duyarlıydı. Bu gruplarda ölüm oranının daha yüksek olduğu görüldü.

Cinsiyet farklılığının da burada etkili olduğu göze çarptı. Dişi sıçanlarda ölüme daha fazla rastlandı. Kendiliğinden ölen tüm sıçanların % 76 sı dişi, % 24 ü erkek idi.

Deneye karşı tolerans gelişimi gözlenmedi. Makroskobik olarak gözlenen bulgular 8 hafta boyunca gözlemlendi.

Beyaz sıçanlarda ve farelerde ilerleyen haftalarda ölüm oranında herhangi bir azalma da görülmedi. Bu kanımca formaldehitin toksik etkisine karşı herhangi bir toleransın gelişmediğini gösterir.

Ölüm oranı (%)

1. hafta.....	14
2. hafta.....	14
3. hafta.....	8
4. hafta.....	10
5. hafta.....	8
6. hafta.....	16
7. hafta.....	12
8. hafta.....	16

Ölen beyaz sıçanların otopsilerinde en belirgin makroskobik bulgu akciğer ödemi ve hemoraji idi. Deney süresince hiç bir gebeliğe rastlanmaması da formaldehitin genital sistem üzerinde de zarar verici etki yaptığına işaret eden bir bulgudur. Literatür bilgilerinde bunu desteklemektedir.

Makroskobik olarak burun kesitlerinde ilerleyen haftalarda daha spesifikleşen nekrotik, grileşmiş mukoza alanları gözlemlendi. Ayrıca mukoza yüzeyinde ve sinuslarda belirgin irin toplanmasının, doku bütünlüğünü ve normal yapısını bozacak kadar arttığı izlendi.

Mikroskobik olarak 1/2 üst bölümü incelenen trachea mukozasında ilerleyen haftalarla daha da belirginleşen akut yangı bulgularına, ülserasyona ve son haftalarda rejener epitel ile squamöz metaplaziye rastlandı. Bu deneyde formaldehitin sitotoksik bir ajan olduğu ve karsinom oluşturabileceği yönündeki düşüncelerimiz pe-

kişti.

Formaldehitli ortamda çalışan işçiler ve diğer görevliler maske kullanmalı, ortam havalandırılması iyi bir şekilde yapılmalıdır. Sürekli hava sirkülasyonunu sağlayan bir sistemin varlığı insan sağlığı açısından çok önemlidir.



ÖZET

1- İrritan bir kimyasal ajan olan formaldehitin beyaz sıçan (*rattus albinus*) ve beyaz farelerde inhalasyon yolu ile trachea mukozasında yarattığı histopatolojik değişiklikler araştırıldı.

2- Sıçanlar denemenin 1,2,3,4,5,6,7,8. haftalarında, fareler 1,3,4,6 ve 8. haftalarında I.M. pentotal Na solüsyonu enjekte edilerek öldürüldü. Tracheanın 1/2 üst kısımları çıkarılarak % 10 formaldehit solüsyonuna alındı. Deneye 100 sıçan ve 20 fare ile başlandı. Bunlardan 50 sıçan ve 15 fare histopatolojik incelemeler için kullanılabilirdi.

3- Hematoksilen-Eosin ve Alcian Blue-PAS boyaları ile hazırlanan preparatlar ışık mikroskobunda incelendi.

4- Kontrol ve deneme gruplarındaki beyaz sıçan ve beyaz farelerin trachealarının ince yapı farklılıkları araştırıldı.

5- Saptanan bulgular diğer araştırmacıların çalışmaları sonucu elde edilen bulgularla karşılaştırılarak değerlendirildi. Literatür bulguları ile paralellik taşıdığı görüldü.

6- Formaldehit gazının inhalasyon yolu ile trachea mukoza hücrelerinde belirgin değişiklikler yapabildiği gözlemlendi.

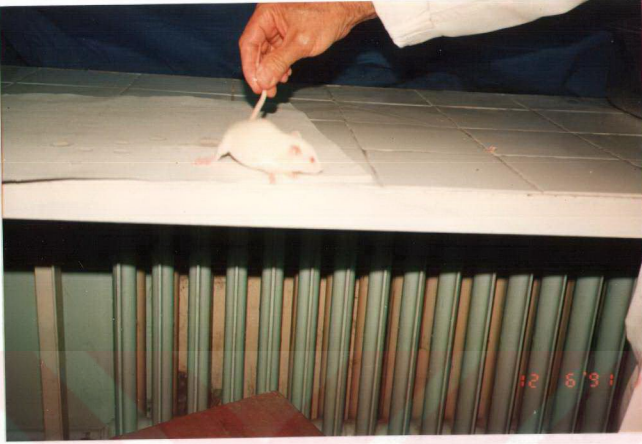
7- Histopatolojik bulgular haftaları göz önünde bulundurularak incelendi. Akut yangı bulguları (ödem, kon-

jesyon, polimorf nüveli lokosit infiltrasyonu, fibrin), ülserasyon, rejenere epitel ve squamöz metaplazi gözleendi.

8- Sonuç olarak formaldehitin solunum mukozası için sitotoksik bir ajan olduğu kanısının doğruluğu saptandı.

KISALTMALAR

- b- Basal hücre
- bm-Basal membran
- c- Silli silindirik hücre
- d- Konjesyone damar kesiti
- e- Ülserasyon
- eu-Ödem
- f- Fibrin
- g- Goblet hücresi
- k- Hyalin kıkırdak
- L- Lümen
- m- Tunica submucosa'daki bez kesiti
- o- Lamina propria
- p- Polimorf nüveli lökosit
- pe-Perikondrium
- pp-Yoğun PNL infiltrasyonu
- s- Siller
- so- Squamoz metaplazi
- z- Lümente yangı hücresi



Resim 1- Normal beyaz sıçan



Resim 2- 2.Haftadan sonra tüylerde görülen kanarya sarısı renk ve burun kanaması



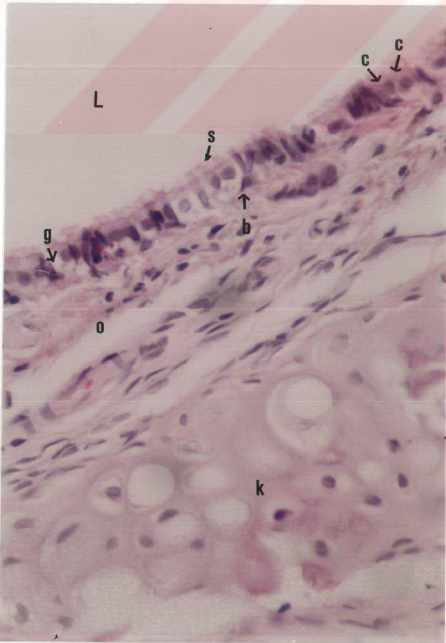
Resim 3- Tüyleri yumurta sarısı rengine dönen
sıçanlar



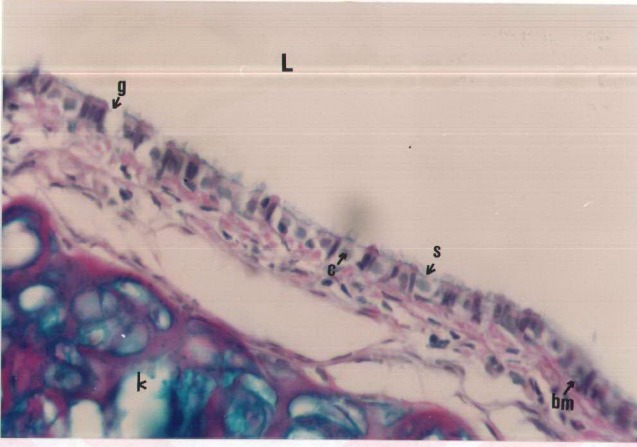
Resim 4- Belirgin yumurta sarısı tüyleri olan sıçan



Resim 5- Deneyin
8. haftasında sıçan
ve fare



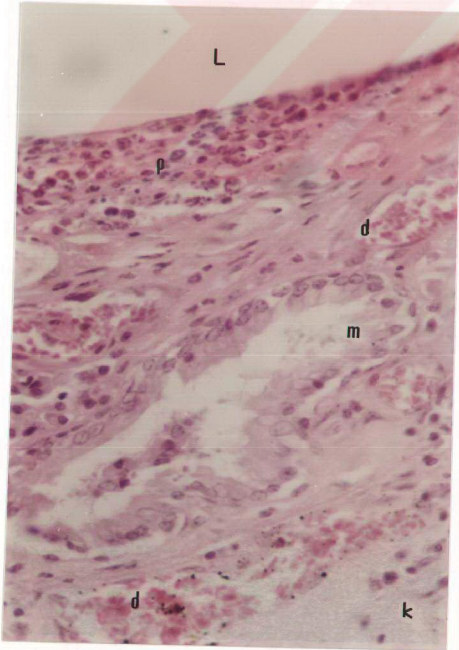
Resim 6- Kontrol
grubunda trachea'nın
mikroskopik görünümü
Boya: Hematoksilen-Eosin
Büyütme: x 400



Resim 7- Kontrol grubunda trachea'nın mikroskopik görünümü

Boya: Kombine Periodik asit-Schiff ve Alcian blue boyası

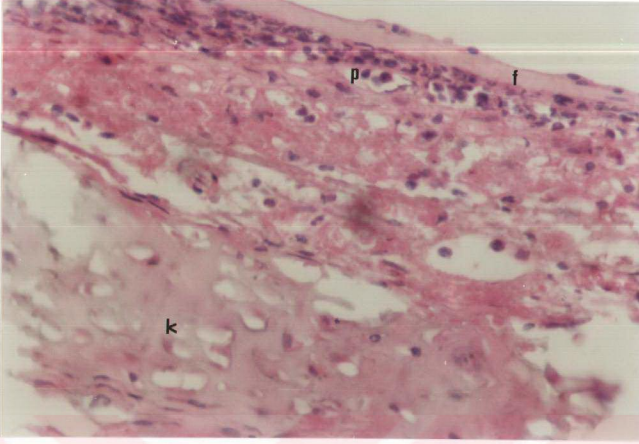
Büyütme: x 400



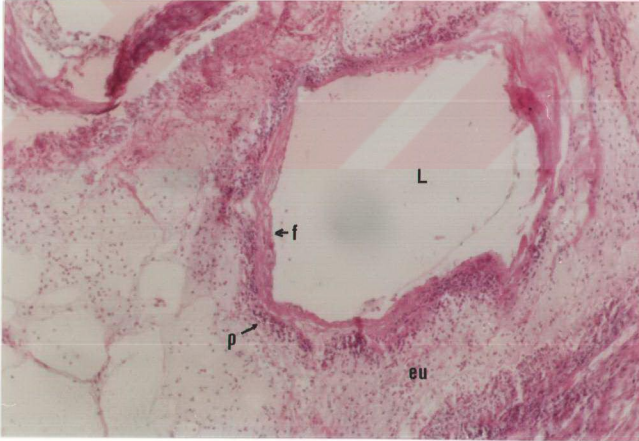
Resim 8- Deneyin 2.haftasını bitiren bir deney hayvanının trachea mukozası görünümü

Boya: Hematoksilen-Eosin

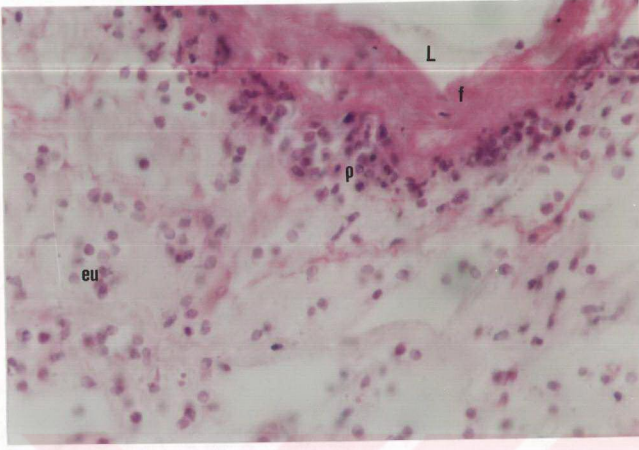
Büyütme: x 400



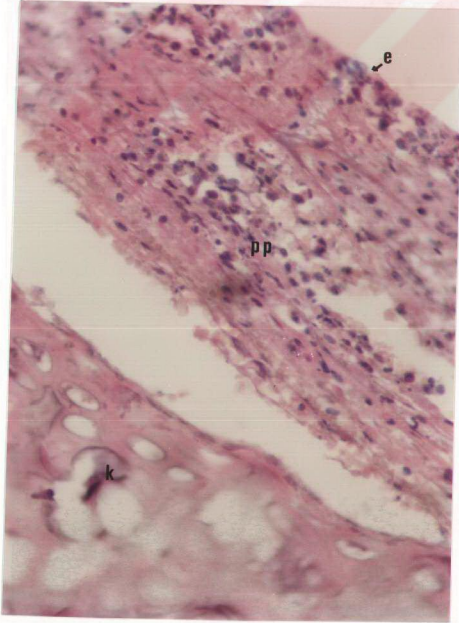
Resim 9- Deneyin 2.haftasında bir başka deney hayvanına ait epitel ve epitel altı dokusunun görünümü
Boya: Hematoksilen-Eosin
Büyütme: x 400



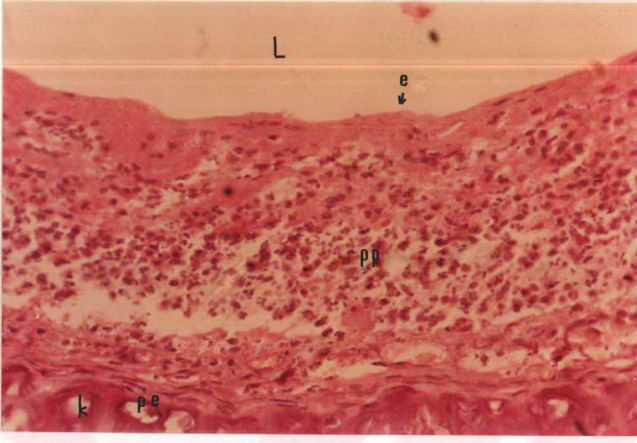
Resim 10- Deneyin 2.haftasını bitiren bir başka deney hayvanına ait epitel ve epitel altı görünümü
Boya: Hematoksilen-Eosin
Büyütme: x 40



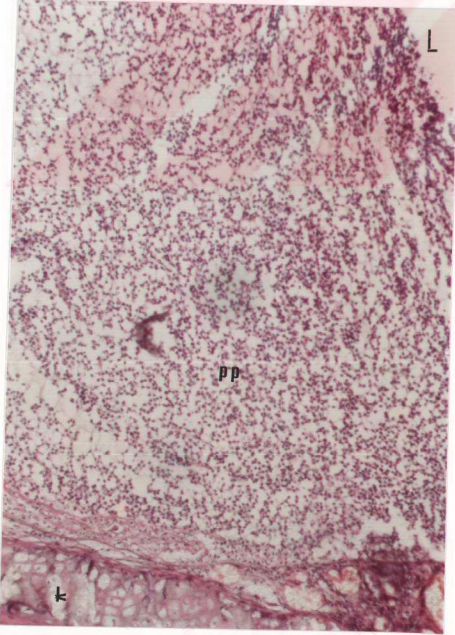
Resim 11- Resim 10'daki sahanın daha büyük büyütmedeki görünümü
Boya: Hematoksilen-Eosin
Büyütme : x 400



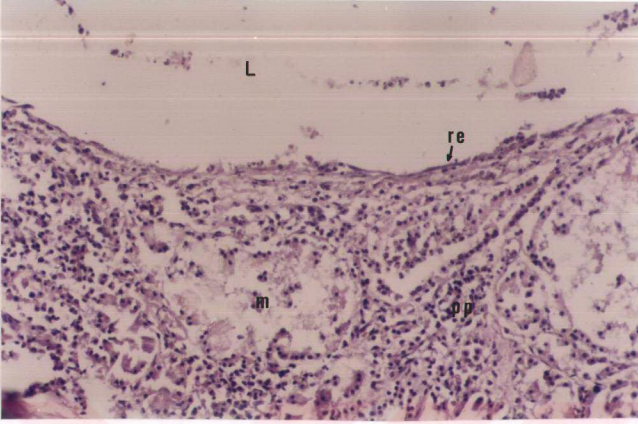
Resim 12- 3.haftadaki histopatolojik görünüm
Boya: Hematoksilen-Eosin
Büyütme: x 40



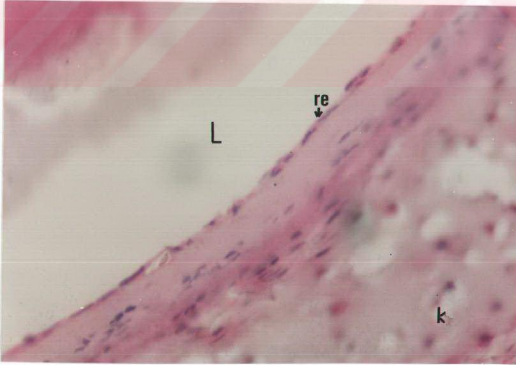
Resim 13- Deneyin 4.haftasını bitiren bir deney hayvanına ait trachea mukozası görünümü
Boya: Hematoksilen-Eosin
Büyütme: x 400



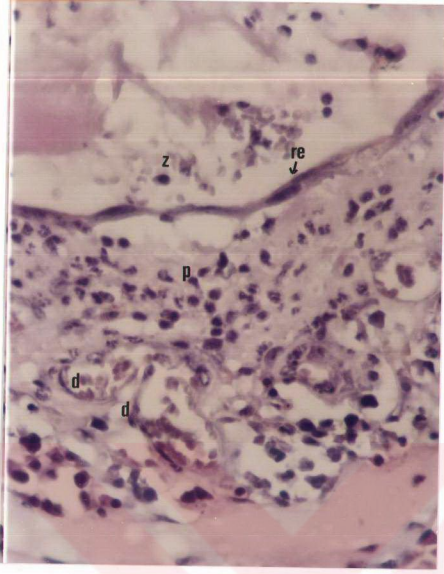
Resim 14- Deneyin 6.haftasını bitiren deney hayvanındaki mukoza görünümü
Boya: Hematoksilen-Eosin
Büyütme: x 100



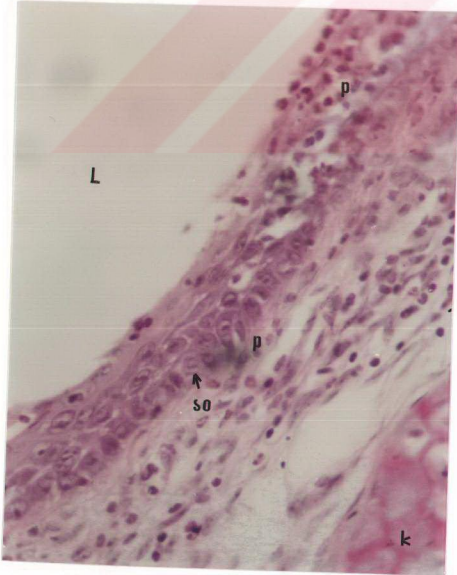
Resim 15- Deneyin 7.haftasının sonundaki mukoza görünümü (Rejenere epitel)
Boya: Hematoksilen-Eosin
Büyütme: x 200



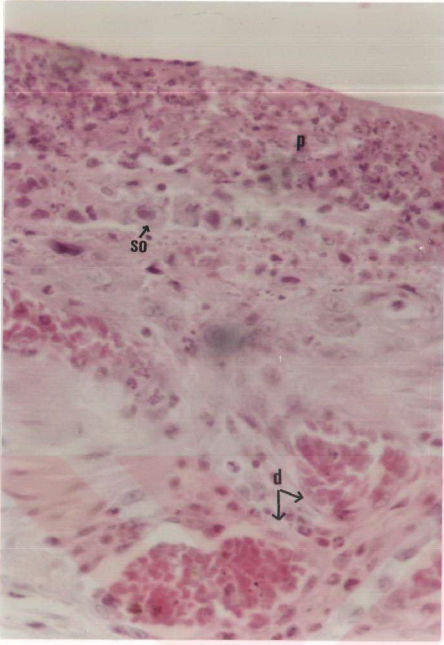
Resim 16- VII.haftanın sonunda görülen rejenere epitel
Boya: Hematoksilen-Eosin
Büyütme: x 400



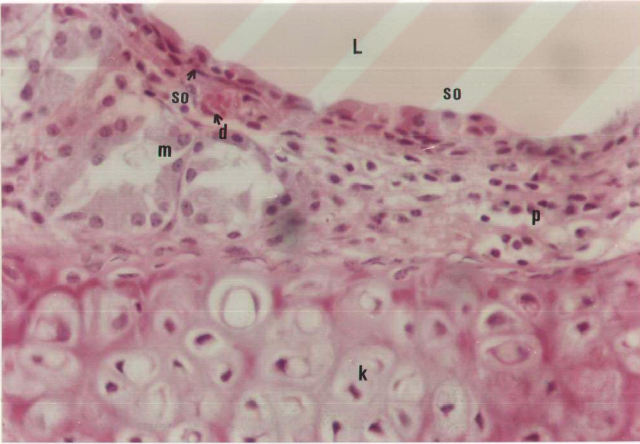
Resim 17- 7.hafta sonun-
daki görünüm (Rejenere
Epitel)
Boya: Hematoksilen-Eosin
Büyütme: x 400



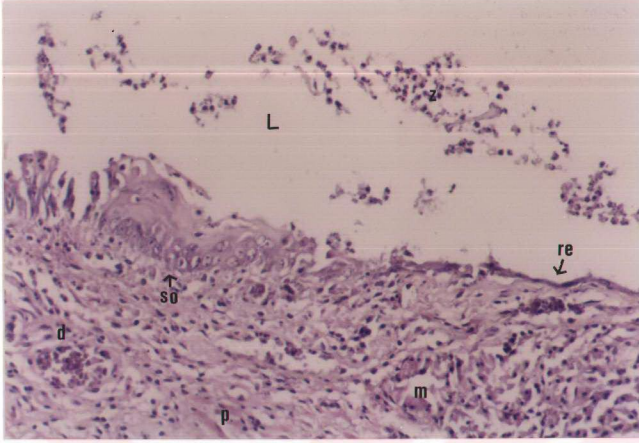
Resim 18- 8.hafta sonunda
bir başka deney sıça-
nına ait görünüm
(Squamöz metaplazi)
Boya: Hematoksilen-Eosin
Büyütme: x 400



Resim 19- 8.hafta sonun-
daki bir başka deney
sıçanına ait görünüm
(Squamöz metaplazi)
Boya: Hematoksilen-Eosin
Büyütme: x 400



Resim 20- 8.hafta sonundaki görünüm
Boya: Hematoksilen-Eosin
Büyütme: x 400



Resim 21- 8.hafta sonunda görülen rejenerere epitel ve squamöz metaplazi
Boya: Hematoksilen-Eosin
Büyütme: x 200



Resim 22- 8.hafta sonundaki görünüm
Boya: Kombine Periodik asit-Schiff ve Alcian Blue
Büyütme: x 400

KAYNAKLAR

- 1- Acheson E.D., Gardner M.J., Pannett B., Barners H.R.,: Formaldehyde in the British Chemical Industry, Lancet 611-6, (1984).
- 2- Acheson E.D., Barners H.R., Gardner M.J., Pannett B.,: Formaldehyde Process Workers and Lung Cancer, Lancet, 1066-70, (1984).
- 3- Adams O., Hamilton T.A., Lauer L.D and Dean J.R.,: The Effect of Formaldehyde Exposure Upon the Mononuclear Phagocyte Sistem of Mice, Toxicology and Applied Pharmacology 88, 165-174, (1987).
- 4- Albert R.E., Sellakumar A.R., Laskins et al : Gaseous Formaldehyde and Hydrogenchloride Induction of Nasal Cancer in the Rat, JNCL 68: 597-603, (1982).
- 5- Alexanderson R., Hedenstlerna G.,: Respiratory Hazards Associated with Exposure to Formaldehyde and Solvents in Asid-Curing Paints, Archives of Enviromental Health May/June (1988).
- 6- Alexanderson R., G.Hedenstierna : Exposure to Formaldehyde Effects on Pulmoner Function, Archives of Enviromental Health, 37: 279-284, (1982).
- 7- Baker Henry J, Lindsey J.Russell, Weisbroth S.H.,: The Laboratory Rat, Volume I, Biology and Diseases
- 8- Ballander J : Some Effects of Formaldehyde on the Upper Respiratory Tract, Laryngoscope 94, November 1411-1413, (1984).

- 9- Bauchinger M., Schmid E.: Cytogenetic Effects in Lymphocytes of Formaldehyde Workers of a Paper Factory, Mutation Research 158, 195-199, (1985).
- 10- Beal J., Ulsamen A.: Formaldehyde and Hepatotoxicity, Journal of Toxicology and Environmental Health 13:1-21 (1984).
- 11- Bender R., Mullin L., Graepel J., Wilson W.E.: Eye Irritation Response of Human to Formaldehyde, Am Ind Hyg Assoc J. 44(6): 463-465 (1983).
- 12- Berke H : Cytologic Examination of the Nasal Mucosa in Formaldehyde Exposed Workers, Journal of Occupational Medicine, August 68: 1-4, (1987).
- 13- Blackwell M., Kang H., Thomas A.: Formaldehyde Evidence of Carcinogenicity, Am Ind Hyg Assoc J. 42: A 34-A 46, (1981).
- 14- Blair A., Stewart P.O., Bergin O., Garfey L.V.: Mortality Among Industrial Workers Exposed to Formaldehyde, J.Natl Cancer Inst 76: 1071-84.
- 15- Blair A., Stewart P.O., Hoover R.etal: Cancers of the Nasopharynx, Oropharynx and Formaldehyde Exposure, J.Natl. Cancer Inst 78: 191-192, (1987).
- 16- Bongdanffy M.S., Morgan T.: Binding of Formaldehyde to Human and Rat Nasal Mucus and Bovine Serum Albumin, Toxicol.letter 381, 145-158, (1987).
- 17- Burian K und Stockinger L.: Zur Klarung der Riesenzellbildung bei der Regeneration der Nasenschleimhaut, Monatsschrift für Ohrenheilkunde und Laryngo-Rhinologie Jahrgang 141-157, (1959).

- 18- Burian K: Über die Restitutionsfähigkeit des Flimmerepithels der Nase Nach Totaler zerstörung des Epithels, Laryngologie, Rhinologie, Otologie Juni 387-398 (1960).
- 19- Casanovo M., Deye F.D., Heck D'A.H: Covalent Binding of Inhaled Formaldehyde to DNA in the Nasal Mucosa of Fischer 344 Rats, Fundamental and Applied Toxicology 12. 397-417 (1989).
- 20- Casanovo M., Heck D'AH. Effects of Formaldehyde Exposure on the Extractability of Formaldehyde in the Rat Nasal Mucosa, Toxicology and Applied Pharmacology, 70, 121-132 (1983).
- 21- Chang F., Grass J., Swenberg A., Barrow S., : Nasal Cavity Deposition, Histopathology and cell Proliferation after Single or Repeated Formaldehyde Exposures in B₆ C₃ F₁ and F₃₄₄ rats, Toxicol Appl. Pharmacol, 68, 161-176, (1983).
- 22- Cockroft D.W ., Hoepfner V.H., Dobvich J.: Occupational Astma Caused by Cedar Urea-Formaldehyde Particle Board, Chest-82: 49-53, (1982).
- 23- Coldiran V.R., Ward J.B., Trief N.M.: Occupational Exposure to Formaldehyde in o Medical Center Autopsy-service J.Occup Med-25: 544-548, (1983).
- 24- Cosma G.N., Marchok A.C.: Benzopyrene and Formaldehyde Incuded DNA Damage and Repair in Rat Tracheal Epithelial Cells, Toxicology 51: 309-320 (1988).

- 25- Council on Scientific Affairs: American Medical Association Chicago, Formaldehyde, JAMA February 24, Vol 261, 1133-1137 (1989).
- 26- Council on Scientific Affairs: Formaldehyde in Manufactured Housing Deport D (A-85) Chicago, American Medical Association 1985.
- 27- Craft T., Bermude 2 E. and Skopek T.: Formaldehyde Mutagenesis and Formation of DNA- Drotein crosslinks in Human Lymphoblasts in vitro, Mutat. Research 176, 147-152, (1987).
- 28- Edling C., Hellquist H., Odkvist L : Occupational Formaldehyde Exposure and the Nasal Mucosa, Rhinology- 25, 181-7 (1987).
- 29- Edling C, Hellquist H, Ödkvist L.: Occupational Exposure to Formaldehyde and Histopatological Changes in the Nasal Mucosa, British Journal of Industrial Medicine 761-765 (1988).
- 30- Edling C., Ödkvist L. Hellquist H: Formaldehyde and Nasal Mucosa, British Journal of Industrial Medicine 42: 570-1 (1985).
- 31- Engelhardt G., Fleig I., Helmstödler G.: Formaldehyde has Clastogenic Effect in Peripheral Lymphocytes in vivo, Mutation Research 180, 131-136, (1987).
- 32- Farris E.: The Care and Breeding of Laboratory Animals, 1950.

- 33- Feron V.J., Bruyntjes J.D., Wourtersen R.A.: Nasal Tumours in Rats After Short-term Exposure to a Cytotoxic Concentration of Formaldehyde, Cancer Letters 39: 101-111 (1988).
- 34- Frazelle J., Abernethy D. and Boreiko C.: Weak Promotion of $C_3H/10T$ 1/2 cell Transformation by Repeated Treatments with Formaldehyde, Cancer Research 43, 3236-3239, July, (1983).
- 35- Frigas E., Filley W., Deed C.: Bronchial Challenge with Formaldehyde Gas : Lack of Bronchoconstriction in 13 patients Suspected of Having Formaldehyde Induced Asthma. Mayo Clinic Proceeding, May, 295-299, (1984).
- 36- Gerin M., Siemiatyckij., Nadon L., Dewar R.: Cancer Risks Due to Occupational Exposure to Formaldehyde Int J.Cancer 40, 53-58, (1989).
- 37- Goldmacker V.S., Thilly W.G.: Formaldehyde is Mutagenic for Cultured Human Cell, Mutat Res 116, 417-22, (1983).
- 38- Grafstrom C.R., Fornace A.J., Autrup H: Formaldehyde Damage to DNA and Inhibition of DNA Repair in Human Bronchial Cells, Science, 216-218, April (1983).
- 39- Halperin W., Geodman M., Stayner L.: Nasal Cancer in a worker exposed to Formaldehyde J.Am.Med. Assoc, 249: 510-512, (1983).

- 40- Hastie A., Patrick H., Fish J: Inhibition and Recovery of Mammalian Respiratory Ciliary Function after Formaldehyde Exposure, Toxicology and Applied Pharmacology 102, 282-291, (1990).
- 41- Hayes R.B., Rattgever J.W., De Bruyn et al: Cancer of Nasal Cavity and Paranasal Sinuses and Formaldehyde Exposure, Int.J. Cancer 37, 487-492, (1986).
- 42- Hendrick D.J. and Lane D.J.: Formalin Astma in Hospital Staff Br.Med.J.1: 607-608 (1975).
- 43- Hendrick D.J., Dando R.J., Lane D.J.: Formaldehyde Astma: Challenge Exposure Levels and Fate After Five Years, J.Occup. Med 24, 893-96 (1982).
- 44- Holmstrom M., Dynel B. and Wilhelmsson B.: Antibody Production in Rats Long Term Exposure to Formaldehyde, Toxicology and Applied Pharmacology 100, 328-333,(1989).
- 45- Holmstrom M., Wilhelmsson B., Hellauist B: Histological Changes in the Nasal Mucosa in Persons Occupationally Exposed to Formaldehyde Alone and Combination with Wood Dust, Acta Otolaryngol. 107, 120-129, (1989).
- 46- Imbus H., Tochilin S: Acute Effect Upon Pulmoner Function of Low Level Exposure to Phenol Formaldehyde Resin-coated wood, Am.Ind.Hyg.Assoc.J.49 (9), 434-7 (1988).
- 47- Kerns D.W., Parkow L.K., Donofrio J.D.: Carcinogenicity of Formaldehyde in Rats and Mice after Long Term Inhalation Exposure Cancer Research 43, 4282-4292, Sept, (1983).

- 48- Kilburn K., Warshaw R., Boylen T.: Pulmoner and Neurobehavioral Effects of Formaldehyde Exposure, Archives of Environmental Health, Sep/Oct, 254-260, (1985).
- 49- Klein-Szanto A.J.P., Ura H., Resou J.: Formaldehyde Induced Lesions of Xenotransplanted Human Nasal Respiratory Epithelium, 33-7, Volume 17, Number 1 (1989).
- 50- Kligerman A.D., Phelps M.C. and Ereson G.L.: Cytogenetic Analysis of Lymphocytes from Rats Following Formaldehyde Inhalation, Toxicology Letters 21, 241-246, (1984).
- 51- Kochhar R., Nondov V., Nagi B.: Formaldehyde Induced Corrosive Gastric Cicatrization Human, Toxicology 5, 381-382, (1986).
- 52- Kolmer W: Normale Anatomie der Nase Histologisch Embrylogisches Institut der Universitöt Berlin 13-24, (1931).
- 53- Kopp Shelby : Formaldehyde, Dpictions, April-June 5-6 (1984).
- 54- Kunkel B.D.: The formaldehyde puzzle, Emergency Medicine, May 15, 57-69, (1986).
- 55- Kwong F., Kraske G., Nelson M.: Acut Symptoms Secondary to Formaldehyde Exposure in a Patology Resident, Anals of Allergy 326-328, May, (1983).
- 56- Linskaw R.: Contact Urticaria to Formaldehyde, Contact Dermatitis, 8-5, 333-4, Sep, (1982).

- 57- Mattia A.M.: Hazards in the Hospital Environment the Sterilans: Ethylene Oxide and Formaldehyde, American Journal of Nursing, 240-243, Feb, (1983).
- 58- Monteiro-Riviere M.A and Papp J.: Ultrastructural Evaluation of Acute Nasal Toxicity in the Rat Respiratory Epitelium in Response to Formaldehyde Gas, Fundam. Appl. Toxicol 6, 251-262, 1986.
- 59- Morgan K.T., Gross E.A., Paterson D.L.: Distribution Progression and Recovery of Acute Formaldehyde Induced Inhibition of Nasal Mucociliary Function in F₃₄₄ Rats, Toxicol. Appl. Pharmacol 86, 448-452, (1986).
- 60- National Research Council Committe on Aldehydes, Formaldehyde and Other Aldehydes P.188 National Academy Press Washington (1980).
- 61- Nelson N., Levine J., Albert A., Blair R. et al: Contribution of Formaldehyde to Respiratory Cancer, Environ. Health Perspect 70, 23-30, (1986).
- 62- Olsen J.H., Plough J.S., Hink M., et al: Occupational Formaldehyde Exposure and Increased Cancer Risk in Man, Int J. Cancer 34: 639-44, (1984).
- 63- Pertovaara A. and Tukeva T: Effect of Subcutaneous Formalin Treatment on Responses to Bulboreticular Nociceptive Neurons in the Rat, Brain Research, Vol: 23, 457-462, (1989).
- 64- Rusch M., Clary J., Ranehart W., Bolte H.: 26 Week Inhalation Toxicity Study with Formaldehyde in the Monkey, Rat and Hamster, Toxicology and Applied Pharmacology 68, 329-343, (1983).

- 65- Saillenfait M., Bonnet P and Ceaurriz J.: The effects of Maternally Inhaled Formaldehyde on Embryonal and Foetal Development in Rats, Fundemantal Chemical Toxicology Vol:27, 545-548, (1989).
- 66- Saladino A.J., Willey J.C., Lechner J.F.: Effects of Formaldehyde, Acetaldehyde Benzylperoxide and Hydrogenperoxide on Cultured Human Bronchial Cells, Cancer Res.45, 2522-2526, (1985).
- 67- Sauder L., Chatman D., Green J. and Kulle J.: Acute Pulmonary Response to Formaldehyde Exposure in Healthy Nonsmokers, J.Occup.Med, 28(6),420-424,(1986).
- 68- Schacter E.N., Tosun T., Beck J.G.: A study of Respiratory Effects From Exposure to 2 ppm Formaldehyde in Healthy Subjects, Archives of Environmental Health, 229-237,July/August, (1986).
- 69- Sellakumar A.R., Snyder C.A., Saloman J.J., Albert R.E.: Carcinogenicity of Formaldehyde and Hydrogechloride in Rats, Toxicology and Appl. Pharmacol, 81, 401-6, (1985).
- 70- Sheppard D., Eschenbacher W., Epstein J.: Lack of Bronchomotor Response to up to 3.0 ppm formaldehyde in Subjects with Asthma,Enviran Res,35,133-139,(1984).
- 71- Shiba M., Marckok A., Andress J.P.: The Effects of Formaldehyde Gas in Flow Through Rat Tracheal Implant System,Toxicology 30,317-325, (1984).

- 72- Shusterman D., Balmes J., Cone J.: Behavioral Sensitization to Irritants Odorants After Acute Over Exposures, Journal of Occupational Medicine Vol:30, 565-567, July, (1988).
- 73- Skisak C.: Formaldehyde Vapor Exposures in Anatomy Laboratories, Am Ind Hyg.J.44(12) 948-950, (1983).
- 74- Solomons K., Cochran J.W.: Formaldehyde Toxicity, S.A.Medical Journal, vol 66 (July 1984).
- 75- Sterling T and Arundel A: Formaldehyde and lung cancer, The Lancet 14,1366-8, (Dec 1985).
- 76- Stroup N.B., Blair A., Brickson G.E.: Brain Cancer and Other Causes of Deaths in Anatomists, JNCL 77, 1217-1244, (1987).
- 77- Stutts M., Gatzky T., Knawles M., Cotton U.: Effects of Formaldehyde on Bronchiol Ion Transport, Toxicology and Applied Pharmacology 82,360-367,(1986).
- 78- Swenberg J.A., Kerns W., Mitchel R.I.: Induction of Squamous Cell Carcinoma on the Rat Nasal Cavity by inhalation Exposure to Formaldehyde vapor, Cancer Research: 40,3398-3402, (1980).
- 79- Vale D.T. and Pycroft J.G.: Occupational Irritant Contact Dermatitis From Fibreboard Containing Urea-Formaldehyde Resin,Contact Dermatitis 19(1), 62,July 1988.
- 80- Vaughan T., Strader C., Davis S., Dalling J.: Formaldehyde and Cancer of the pharynx Sinus and Nasal Cavity I,Occupational Exposures Int J.Cancer 38,677-683 (1986).

- 81- Vaughan T., Strader C., Davis S., Dalling J.:
Formaldehyde and Cancers of Pharynx Sinus and Nasal
Cavity II. Residential Exposures Int. J Cancer 38,
685-688, (1986).
- 82- Ward J.B. et al: Spermcount Morfology and
Fluorescent Body Frenquency in Autopsy-Service
Workers to Formaldehyde, Mutation Research 130(6)
7-24, Dec, (1984).
- 83- Warheirt D., Kinney L., Carokostos C et al:
Inhalation Toxicity Study of Formamide in Rats,
Fundamental and Applied Toxicology 13,702-713,(1989).
- 84- Wilhelmsson B., Holmstram M: Positive Formaldehyde
RAST After Prolonged Formaldehyde Exposure by
Inhalation, Lancet 2,164 (1987).
- 85- Wilhelmsson B., Lundh B.: Nasal Epithelium in
Woodworkers in the Furniture Industry-A. Histological
and Cytological Study, Acta Otolaryngol. 98,
321-324 (1984).
- 86- Wilmer J.W., Woutersen R., Appelman L.M. Subchronic
Inhalation Toxicity of Formaldehyde in Male Rats,
Toxicology Letters 47,287-293 (1989).
- 87- Wilmer J.W., Woutersen R., Appelman L.M. Subacute
(4 week) Inhalation Toxicity Study of Formaldehyde
in male Rats, J. Appl. Toxicol. 7, 15-22, (1987).
- 88- Zwart A., Wourtersen R.A., Wilmer J.W., et al:
Subchronic Inhalation Toxicity Study with
Formaldehyde in Rats, Toxicology 51,87-99,(1988).