

## تأثیر سیتوتوکسیک بخار فرمالدئید در دوره‌های سه و سی روزه بر مخاط بینی رت

دکتر محمد جاودان\*      طاهره انتظاری ظاهر\*\*

### چکیده :

این پژوهش با هدف تعیین تأثیرات کوتاه مدت و بلند مدت بخار فرمالدئید با غلظت‌های 2ppm و 5ppm بر مخاط بینی رت انجام شد.

طول زمان تأثیرپذیری برای دوره کوتاه مدت ۳ روز و هر روز ۸ ساعت و برای دوره بلند مدت ۳۰ روز و هر هفته ۶ روز و هر روز ۸ ساعت در نظر گرفته شده بود. در پایان آزمایش‌ها در کلیه نقاط بینی حیوان، عوارض و تغییراتی ایجاد شده بود که در محدوده حد فاصل قاعده دندان‌های پیش و اولین برجستگی کامی تغییرات شدیدتر بود.

این تغییرات در دوره کوتاه مدت با غلظت 2ppm به صورت عوارض هیستوپاتولوژیک نظیر پرخونی کوریون، بهم خوردن نظم سلولی، هیپرپلازی سنگفرشی و هیپرپلازی اپیتلیوم بویایی و میتوز آتیبیک ظاهر شد. در دوره بلند مدت با همین غلظت، عوارض با شدت بیشتری ظاهر شدند.

عوارض ایجاد شده در غلظت 5ppm، در دوره کوتاه مدت به صورت افزایش سلول‌های گابلت، به هم خوردن نظم سلولی، پرخونی کوریون، هیپرپلازی اپیتلیوم بویایی، میتوز آتیبیک، متاپلازی سنگفرشی، مناطق کلسیفیه و کانون‌های آبه‌س مشاهده گردید. در دوره بلند مدت با همین غلظت، عوارض ایجاد شده شدیدتر بود و یک مورد پسودو اپیتلیوما نیز مشاهده گردید. بنابر این با افزایش غلظت بخار فرمالدئید و هم چنین افزایش زمان تأثیرپذیری، عوارض شدت بیشتری را نشان می‌دهند.

### کلیدواژه‌ها : فرمالدئید - بخار سمی - مخاط بینی رت

**Keywords :** Formaldehyde , Inhalation Toxicity , Rat nasal histology

### □ مقدمه :

امروزه با صنعتی شدن جوامع بشری مواد زیان‌آور بسیاری به صورت گاز، بخار یا ذرات معلق از طریق هوای تنفسی به دستگاه تنفس انسان راه می‌یابند که گاهی خطرهای جدی و ناگواری را ایجاد می‌کند.

یکی از این مواد فرمالدئید است که NIOSH (National institute for occupational safety & health) آن را یک ماده سرطان‌زا معرفی کرده است. این ماده نسبتاً ارزان در ساخت بسیاری از مواد مصرفی نظیر لوله‌های PVC، قرقره، زیپ، شانه، ظروف ملامین، حشره‌کش‌ها، پروتزهای دندانی، مواد شوینده، موکت، پرده، کاغذ روزنامه و نئوپان استفاده می‌شود و به دلیل ثابت نبودن ساختمان ملکولی آن به آهستگی تبخیر و در هوا متصاعد می‌گردد. به همین دلیل مشاهده گردیده است کارگران صنایع چوب، رزین‌سازی، رنگ‌سازی و تکنسین‌های آزمایشگاه‌های پاتولوژی که بیش از ۵ سال در معرض گاز این ماده قرار داشته‌اند، دچار عوارضی نظیر از دست دادن مژه‌های مخاط تنفسی، هیپرپلازی و متاپلازی سنگفرشی و چند مورد سرطان S.C.C شده‌اند (۳ و ۷ و ۱۰). همین تأثیرات یا شدتی کمتر در دانشجویان پزشکی که از سالن تشریح استفاده نموده‌اند نیز دیده شده است (۲).

در مطالعه بر روی مخاط تنفسی رت نیز عوارض مشابهی مشاهده گردیده است (۱ و ۵ و ۶ و ۱۱ و ۱۲). از این جهت بررسی اثرات کوتاه مدت و بلند مدت این ماده ضروری به نظر می‌رسد.

حذف این ماده یا رساندن غلظت آن به میزان  $0.3ppm$  ( $0.37 mg/m^3$ ) که توسط کمیته فنی بهداشت حرفه‌ای کشور (ITCOH) میزان استاندارد تعیین گردیده، از راه کارهای عملی برای به حداقل رساندن تأثیرات زیان‌آور این ماده به شمار می‌آید.

### □ مواد و روش‌ها :

جامعه مورد پژوهش ۶۰ رت (۳۰ رت نر و ۳۰ رت ماده) از نژاد *Albino wistar* بود که از انیستیتو پاستور ایران خریداری شد.

ماده مورد آزمایش فرمالدئید با غلظت‌های  $5ppm$ ،  $2ppm$ ،  $0ppm$  (آب مقطر) انتخاب گردید. پس از وزن کردن رت‌های نر (*Min 230 gr*، *Max 425 gr*) و رت‌های ماده (*Min 182 gr*، *Max 280 gr*) موش‌ها به ترتیب از وزن کم به وزن زیاد شماره‌گذاری و برای هر یک از جمعیت‌های نر و ماده با استفاده از برنامه تصادفی و روش نمونه‌گیری چند مرحله‌ای، ۶ گروه ۵ تایی برای نرها و ۶ گروه ۵ تایی برای ماده‌ها انتخاب شد. سپس به صورت تصادفی از هر جنس موش‌ها ۳ گروه ۵ تایی برای مطالعات کوتاه مدت (۳ روزه) و ۳ گروه ۵ تایی برای مطالعات بلند مدت (۳۰ روزه) انتخاب شدند و مجدداً از هر یک از این ۳ گروه به صورت تصادفی، گروه‌هایی برای غلظت  $0ppm$  و  $2ppm$  و  $5ppm$  تفکیک گردید.

برای دوره کوتاه مدت، هر یک از گروه‌های انتخابی را به صورت مجزا به مدت ۳ روز و هر روز ۸ ساعت در محفظه شیشه‌ای عایق‌بندی شده نگاهداری کرده و تحت تأثیر بخار فرمالدئید با غلظت‌های  $0ppm$  و  $2ppm$  و  $5ppm$  قرار دادیم و برای بالا بردن ضریب اطمینان در ابتدا، نیمه و پایان آزمایش به وسیله گاز دوزیمتری غلظت محفظه را کنترل نمودیم. موش‌ها در طی آزمایش تغذیه نمی‌شدند و در پایان آزمایش به قفس منتقل و تا روز بعد تغذیه می‌شدند.

پس از اتمام دوره آزمایش (۳ روز) موش‌ها را به وسیله کلروفورم بیهوش کرده و سپس سر آنها را از بدن و فک تحتانی را از فک فوقانی جدا کردیم (۱). ۴ برش توسط اره ظریف در مقطع کرونال به فک بالا و در نتیجه بینی داده شد (شکل شماره ۱). پس از برداشت

همچنین چند مورد هیپرپلازی سلول‌های سنگفرشی نیز مشاهده گردید.

در غلظت 5ppm عوارض ایجاد شده نسبت به دوره کوتاه مدت شدت بیشتری داشت و چند مورد کانون آبه و یک مورد هیپرپلازی پسودوپیتلیوما مشاهده گردید (شکل شماره ۳).

در هر دو جنس نر و ماده عوارض و تغییراتی مشاهده شد.

عوارض در کلیه مقاطع مشهود بود، ولی در مقطع S2 شدت عوارض بیشتر از سایر نواحی بود (شکل شماره ۱).

برای تحلیل نتایج به دست آمده طبق آزمون مقایسه نسبت‌ها در دو جامعه از فرمول Z استفاده شد. در دوره کوتاه مدت و غلظت 2ppm، از ده رت مورد آزمایش ۳ مورد (۳۰ درصد) افزایش سلول‌های گابلت را نشان دادند در حالی که در غلظت 5ppm از ده رت، ۸ مورد (۸۰ درصد) افزایش سلول‌های گابلت را نشان دادند که بدین ترتیب از نظر آماری اختلاف معنی‌دار بود ( $P < 0/05$ ) (نمودار شماره ۱).

در بلند مدت و غلظت 2ppm از ده رت مورد آزمایش، در بینی هیچکدام کانون آبه مشاهده نگردید. در حالی که در غلظت 5ppm از ده رت، ۳ مورد (۳۰ درصد) دارای کانون‌های آبه در مخاط بینی بودند که بدین ترتیب از نظر آماری اختلاف معنی‌دار بود ( $P < 0/05$ ) (نمودار شماره ۲).

#### بحث و نتیجه‌گیری :

در این مطالعه بیشترین حساسیت در مقطع S2 دیده شد که با نظر سوارت و همکاران مبنی بر حساس‌ترین ناحیه بینی رت نسبت به فرمالدئید مطابقت دارد (۱۳).

در مورد عوارض ایجاد شده در جنس‌های نر و

عضلات و نسج‌های نرم اطراف بینی، مقطع به دست آمده را در فرمالدئید ۱۰ درصد به مدت ۴۸ ساعت قرار دادیم تا ثابت شود. پس از فیکسسیون و دکلسیفیکاسیون (محلول اسید فرمیک ۱۰۰cc - اسید کلریدریک ۸۰cc - آب مقطر ۸۲۰cc)، نسج را پاساژ دادیم و پس از رنگ آمیزی بررسی نمودیم.

برای دوره بلند مدت نیز همین روش به کار برده شد با این تفاوت که آزمایش را هر روز ۸ ساعت و هر هفته ۶ روز به مدت ۳۰ روز انجام دادیم.

#### یافته‌ها :

در آزمایش‌های انجام شده، بخار فرمالدئید مصرفی برای موش‌ها به ترتیب 0ppm (آب مقطر)،  $2 \pm 0.08$  ppm و  $5 \pm 0.22$  ppm بود. پس از تهیه مقاطع و رنگ‌آمیزی، مقاطع مورد مطالعه قرار گرفت و نتایج ذیل به دست آمد :

در نمونه‌های شاهد (0ppm) هیچگونه عوارضی دیده نشد.

عوارض ایجاد شده در کوتاه مدت و در غلظت 2ppm عبارت بودند از: بهم خوردن نظم سلولی، آتروفی موضعی اپیتلیوم سنگفرشی، هیپرکرومازی سلولی، تقسیم شدید سلول‌های سنگفرشی، دیسپلازی سلول‌های بازال، افزایش سلول‌های گابلت، هیپرپلازی اپیتلیوم تنفسی، هیپرپلازی اپیتلیوم بویایی (شکل شماره ۲)، میتوز آتیپیک و پرخونی کوریون.

در کوتاه مدت و در غلظت 5ppm عوارض مشابه عوارض در غلظت 2ppm منتهی با شدت بیشتر مشاهده شد. همچنین پاراکراتوز و هیپرپلازی سلول‌های سنگفرشی نیز در این غلظت دیده شد.

عوارض ایجاد شده در بلند مدت و در غلظت 2ppm مشابه دوره کوتاه مدت ولی با شدت بیشتر بود.

افزایش سلول‌های گابلت اختلاف معنی‌دار وجود داشت.

در دوره بلند مدت نیز عوارض ایجاد شده برای غلظت 5ppm شدت بیشتری نسبت به غلظت 2ppm نشان داد که در مورد ایجاد کانون‌های آبسه در کوریون اختلاف معنی‌دار وجود داشت. لازم به ذکر است که در هیچیک از منابع مورد بررسی غلظت‌های 2ppm و 5ppm با هم مورد سنجش قرار نگرفته‌اند.

لذا با توجه به عوارض زیان‌بار بخار فرمالدئید پیشنهاد می‌شود:

در مراکزی که از فرمالدئید استفاده می‌شود نظیر سالن‌های تشریح، آزمایشگاه‌های تشخیص طبی - بافت‌شناسی - پاتولوژی، حتماً از سیستم تهویه قوی و مناسب استفاده شود تا غلظت این ماده به حد استاندارد (0.3 ppm) برسد. همچنین تأثیر بخار فرمالدئید بر روی پوست، قرنیه، ریه و سایر احشاء رت مورد ارزیابی قرار گیرد.

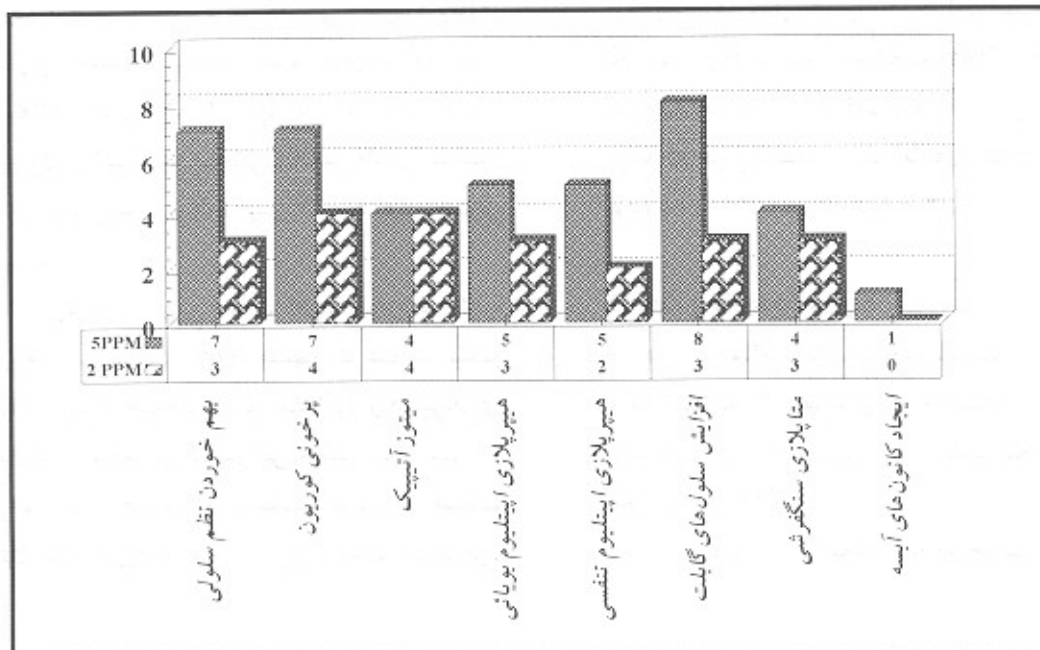
ماده تفاوت محسوسی دیده نشد و از نظر آماری نیز اختلاف معنی‌داری وجود نداشت. اپلمن نیز آن را تأیید کرده است (۱۲).

با توجه به شدت عوارض ایجاد شده در دوره بلند مدت نسبت به دوره کوتاه مدت، به نظر می‌رسد که شدت عوارض ایجاد شده با طول مدت استنشاق بخار فرمالدئید نسبت مستقیم دارد. با افزایش طول مدت استنشاق، عوارض نظیر بهم خوردن نظم سلولی و همچنین هیپرپلازی اپیتلیوم بویایی افزایش یافت. تشدید عوارض فوق را به ترتیب سوارت و واترسون نیز گزارش کرده‌اند (۱۱ و ۱۳). افزایش طول مدت استنشاق همچنین باعث بروز هیپرپلازی سنگفرشی شد که ویلمر نیز آن را تأیید می‌کند (۱۱).

در دوره کوتاه مدت افزایش غلظت از 2ppm به 5ppm نیز منجر به افزایش بهم خوردن نظم سلولی، افزایش سلول‌های گابلت، پرخونی بیشتر کوریون و ایجاد کانون‌های آبسه در کوریون گردید که در مورد

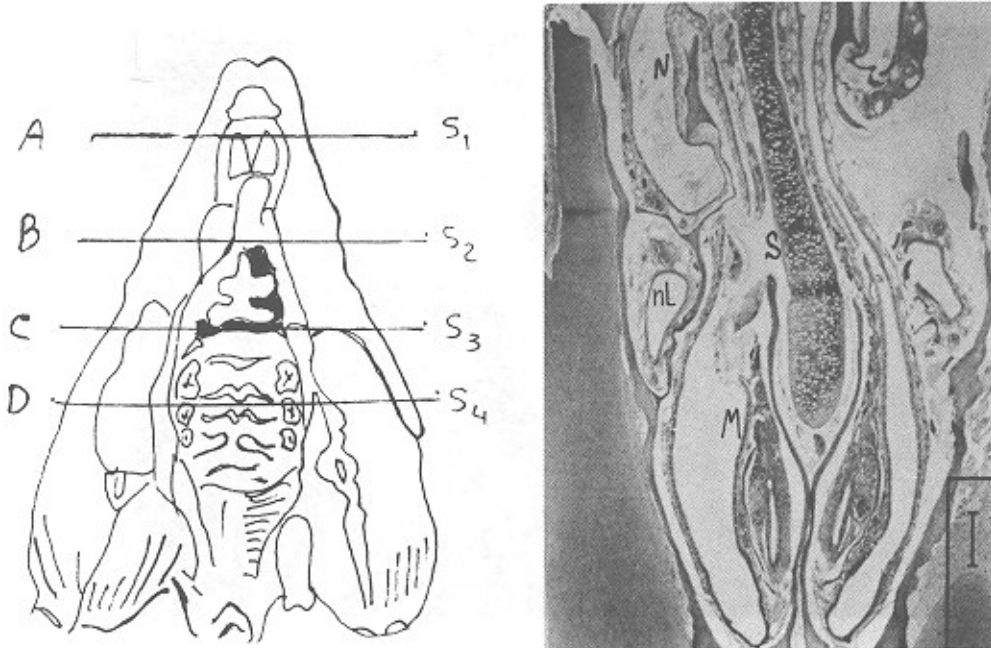
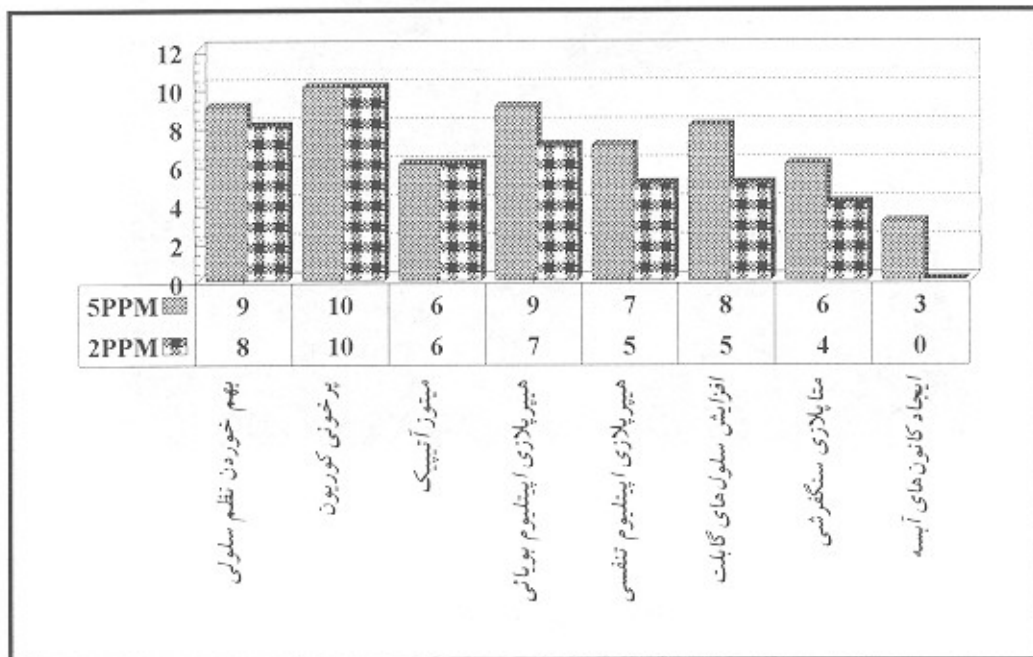
نمودار ۱:

توزیع فراوانی عوارض ناشی از استنشاق بخار فرمالدئید با غلظت‌های 5ppm و 2ppm در سه روز



نمودار ۲:

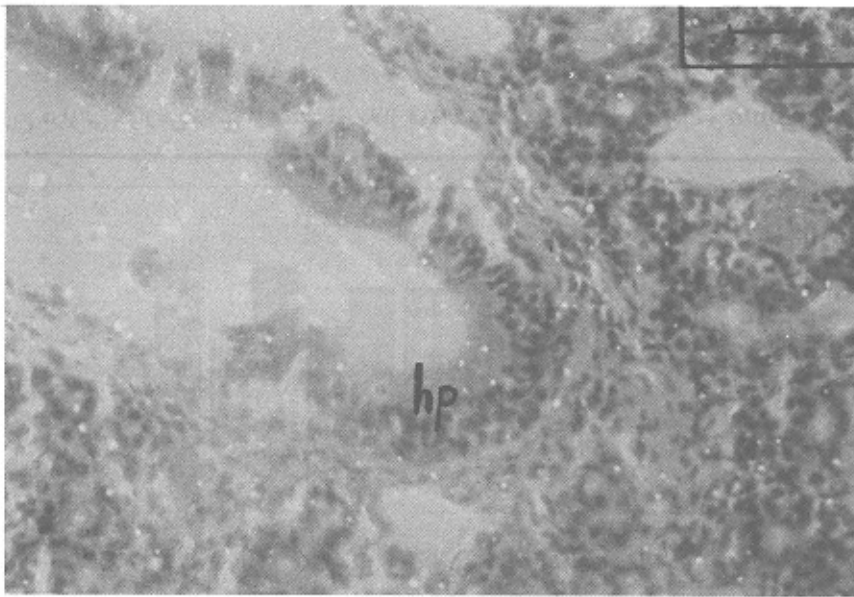
توزیع فراوانی عوارض ناشی از استنشاق بخار فرمالدئید با غلظت‌های 5ppm و 2ppm در سی روز



شکل ۱:

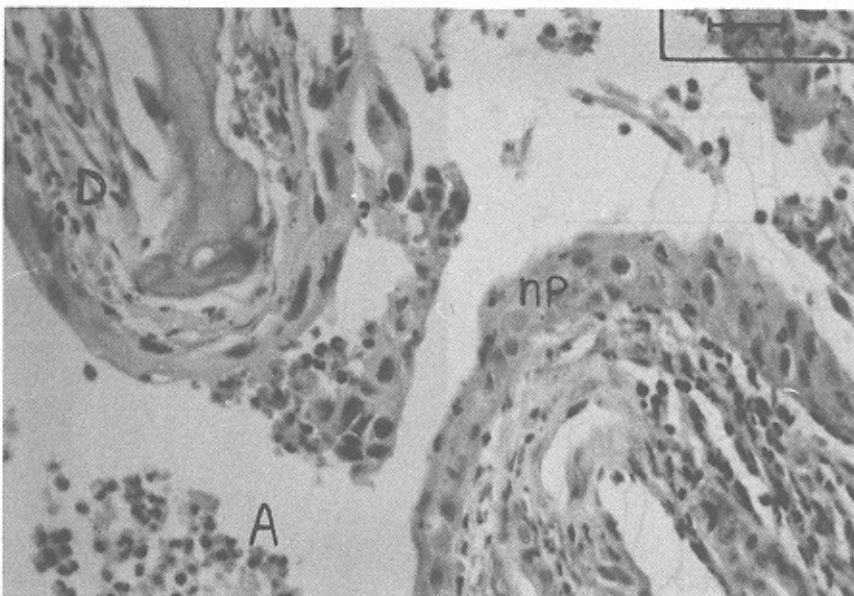
برش کروئال از حفره بینی (S2) Rat

N: شاخک نازال M: شاخک ماگزیلاری S: سینوم بینی nl: مجرای نازولاکریمال (H&E) 32



شکل ۲:

اینتلیوم بویائی بینی *Rat*  
*hp*: هیپرپلازی (H&E) 400



شکل ۳:

هیپرپلازی پسودوپیتلیوما  
*A*: کانون آماس    *D*: بهم خوردن نظم سلولی    *np*: پلی مورفیسم هسته‌ای (H&E) 400

### 📖 مراجع :

1. Cedling, Hellquist, Lodkvist. Occupational exposure to formaldehyde and histopathological changes in the nasal mucosa. *Br-J-IND-Med.* 1988 ; 45 : 761-5.
2. Chia-SE , etal. Medical students exposure to formaldehyde in a gross anatomy dissection laboratory. *J-AM-Coll-Health.* 1992 Nov ; 41 (3) : 115-9.
3. Hadfield-eh. A study of adenocarcinoma of the paranasal sinuses in wood workers in the furniture industry. *Ann-R Coll. Surg Eng.* 1970; 46 : 301-19.
4. Hebel-R , Stromberg-M. W. Anatomy of the laboratory rat. *Williams and Wilkins* , 1976.
5. Holm Strom-M , Wilhelmsson-B , Hellquist. H. Histological changes in the nasal mucosa in rats after long term exposure to formaldehyde and wood dust. *Acta\_ otolaryngol. Stockn.* 1989 Sep-Oct ; 108 (3-40 , 274-83).
6. Kerns - W. D , etal. Carcinogenicity of formaldehyde in rats and mice after long term inhalation exposure. *Cancer Res* 1983 ; (43) : 82-92.
7. Liebling.T etal. Cancer mortality among workers exposed to formaldehyde. *Am. J , Ind. Med.* 1984 ; 5 : 423-8.
8. Monteiro - Riviere. N. A , Popp - J. A. Ultrastructural evaluation of acute nasal toxicity in the rat respiratory epithelium in response to formaldehyde gas. *Fundam-Appl-Toxicol.* 1986 Feb ; 6(12) : 251-62.
9. Swenberg-J. A , etal. Induction of squamous cell Carcinomas of the Rat nasal cavity by inhalation exposure to formaldehyde vapour. *Cancer Res.* 1980 ; 40 : 3398-402.
10. Thornton-J.C , Kaye Kilburn-H , Warshaw-R. Pulmonary Function in histology technicians compared with women from Michigan : effects of chronic low dose formaldehyde on a national sample of women. *British. J. Ind. Med.* 1989 ; 46 : 468-472.
11. Wilmer-J. W , etal. Subacute (4 - week) inhalation. Toxicity study of formaldehyde in male Rats , 8-hour intermittent versus 8-hour continuous exposures. *J.Appl-Toxicol.* 1987 Feb ; 7(1) : 15-21.
12. Wouterson-R.A , etal. Subchronic (13-week) inhalation toxicity study of formaldehyde in Rats. *J.Appl-toxicol.* 1987 Feb ; 7(1) : 43-9.
13. Zwart-A , etal. Cytotoxic and adaptive effects in Rat nasal epithelium after 3-day and 13-week exposure to low concentration of formaldehyde vapour. *Toxicology.* 1988 Sep ; 51(1) : 87-99.