

تأثیر هیستوپاتولوژیک بخار فرمالدهید بر مخاط تنفسی نای موش صحرایی

دکتر محمدجعفر گلعلی پور*

دانشیار گروه علوم تشریحی - دانشگاه علوم پزشکی گرگان

دکتر رامین آذرهوش

استادیار پاتولوژی - دانشگاه علوم پزشکی گرگان

سیدامیرحسین فاضلی

دانشجوی رشته پزشکی

علی داوریان

دانشجوی رشته پزشکی

چکیده

مقدمه: فرمالدهید ماده ای شیمیایی است که مصرف گسترده ای در تثبیت بافتها و نیز اجساد دارد. فرمالدهید در هنگام تشریح جسد تیخیر و در فضای سالن تشریح منتشر می گردد. مشاهدات نشان داده است که این گاز می تواند سبب بروز علائم بالینی نظیر سوزش چشم، گلو و بینی، ریزش اشک و خارش بدلیل تحریکات مخاطی گردد. این مطالعه به منظور تعیین تغییرات هیستوپاتولوژیک مخاط تنفسی نای موش صحرایی (رت) که به مدت ۱۸ هفته در معرض بخار فرمالدهید قرار گرفتند، طراحی شد.

روشها: مطالعه حاضر بر روی ۲۸ سررت نر از نژاد *Albino Wistar* با سن ۸-۶ هفته انجام شد. این حیوانات به طور تصادفی (براساس زمان مواجهه) و به طور کاملاً مساوی به سه گروه آزمایشی شامل گروه E_1 (۴ روز در هفته روزی ۴ ساعت)، گروه E_2 (۴ روز در هفته روزی ۲ ساعت) و گروه E_3 (۲ روز در هفته روزی ۲ ساعت) و یک گروه شاهد (بدون مواجهه) تقسیم شدند. رت‌های گروه‌های شاهد و مورد پس از پایان ۱۸ هفته، تحت بیهوشی کشته شدند. از نمونه‌های نای پس از فیکساسیون و قالب‌گیری، مقاطع بافتی به ضخامت $5 \mu m$ تهیه گردید. تمام مقاطع با هماتوکسیلین - ائوزین رنگ آمیزی و با میکروسکوپ نوری بررسی شد.

یافته‌ها: بهم ریختگی اپیتلیوم، همراه با ناپدید شدن مژه‌ها، تغییرات دیسپلاستیک خفیف و ارتشاح خفیف لنفوسیتها در گروه آزمایش E_1 مشاهده شد. تغییرات بافتی در گروه E_2 و E_3 به صورت بهم ریختگی اپیتلیوم و بی‌نظمی مژه‌ها و ارتشاح خفیف لنفوسیتها مشاهده گردید.

نتیجه‌گیری: این مطالعه نشان داد که هرچه مدت زمان مواجهه با بخار فرمالدهید بیشتر شود، تغییرات هیستوپاتولوژیک مشاهده شده در مخاط تنفسی شدیدتر خواهد بود.

واژگان کلیدی: فرمالدهید، مخاط تنفسی، نای، موش صحرایی.

* نویسنده پاسخگو: گرگان - کیلومتر ۲ جاده گرگان ساری - دانشکده پزشکی گرگان (بنیاد فلسفی) - گروه علوم تشریحی

پست الکترونیک: mjgolalipour@yahoo.com

دورنگار: ۴۴۲۵۱۶۵ (۰۱۷۱)

شود (۶ و ۷).

در طی تشریح جسد، اساتید بخش تشریح و دانشجویان رشته پزشکی در معرض بخار فرمالدهید موجود در فضای سالن تشریح (ناشی از تبخیر ماده فیکساتیو جسد) قرار می گیرند. بنابراین به منظور مطالعه تغییرات هیستوپاتولوژیک در مخاط تنفسی ناشی از مواجهه با بخار فرمالدهید در سالن تشریح و نیز تعیین ارتباط این تغییرات با مدت مواجهه، مطالعه حاضر بر روی موشهای صحرایی (رت) انجام شد.

مواد و روشها

این مطالعه بر روی ۲۸ سررت ۸-۶ هفته ای از نژاد آلبینو ویستار^۱، تهیه شده از انستیتو پاستور ایران، انجام گرفت. رتها، به طور تصادفی و به تعداد مساوی، براساس تفاوت در میزان ساعات مواجهه با بخار فرمالدهید، در سه گروه مورد آزمایش به صورت: مورد ۱ یا E_1 (۴ روز در هفته، روزی ۴ ساعت)، مورد ۲ یا E_2 (۴ روز در هفته، روزی ۲ ساعت) و مورد ۳ یا E_3 (۲ روز در هفته، روزی ۲ ساعت) و یک گروه شاهد (بدون مواجهه) تقسیم شدند (اعداد داخل پرانتز نشانگر ساعات مواجهه می باشد). سنجش وزن هریک از گروهها با ترازوی دیجیتال، میانگینهای ۲۵۲ گرم برای گروه E_1 ، ۲۰۹ گرم برای گروه E_2 ، ۲۲۲ گرم برای گروه E_3 و ۱۹۵ گرم برای گروه شاهد را نشان داد. میانگین غلظت بخار فرمالدهید موجود در سالن تشریح (محل مواجهه گروههای مورد با بخار)، پس از برداشتن پوشش اجساد به وسیله لوله نشانگر^۲ و پمپ دراگر^۳ مدل ۳۱ ساخت کشور آلمان در ابتدا، اواسط و انتهای مطالعه مورد اندازه گیری قرار گرفت.

مقدمه

فرمالدهید CH_2O با وزن ملکولی ۳۰/۰۳ و بوی تند یک واکنش دهنده بی رنگ و قابل اشتعال است که در دما و فشار معمولی اتاق به سرعت پلیمریزه می شود. فرمالدهید در آب، اتانل و دی اتیل اتر قابل حل است و به شکل پلیمریزه (پازافرمالدهید) مورد استفاده قرار می گیرد (۱).

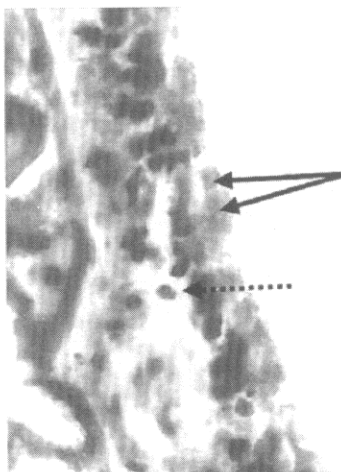
فرمالدهید در هوا، به سرعت توسط نور خورشید اکسید شده و تولید دی اکسیدکربن (CO_2) می نماید. نیمه عمر این ماده در غیاب دی اکسیدنیتروژن (N_2O) در جو، تقریباً ۵۰ دقیقه در طی روز می باشد که در حضور N_2O ، این مدت به ۳۵ دقیقه کاهش می یابد (۱).

گرچه منابع متفاوتی از فرمالدهید وجود دارد ولی اصلی ترین منبع تماس که بر انسان مؤثر می باشد، محیطهای بسته^۱ است. منابع تماسی دیگر شامل انتشار مستقیم به خصوص در فرایند تولید و استفاده از فرمالدهید می باشد (۱).

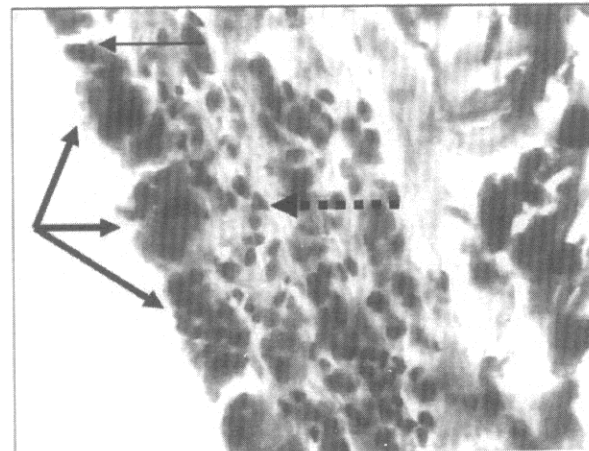
قابلیتهایی چون عمل کردن به عنوان یک ذره الکتروفیل و واکنش با ملکولهای بزرگ و ایجاد پیوندهای متقاطع^۲ غیرقابل برگشت (۲)، فرمالدهید را به عنوان یک تثبیت کننده (فیکساتیو) بافتها در مطالعات بافتی و آسیب شناسی و در تثبیت اجساد مرسوم ساخته است.

مواجهه حاد با بخار فرمالدهید به طور عمده سبب سوزش مخاط چشم و دستگاه تنفسی فوقانی در انسان می شود (۳). این در حالی است که مواجهه با این بخار برای یک دوره طولانی به ایجاد تومور بینی در جوندگان منجر شده است (۴).

فرمالدهید همچنین سبب اختلال در عملکرد ریوی (۵)، تحریک و ایجاد واکنشهای آسماتیک در افراد حساس می



شکل ۲: بی نظمی اپی تلیوم، ارتشاح لنفوسیت در گروه E_1 (H&E, 400x)



شکل ۱: نمایش به هم ریختگی اپی تلیوم، ارتشاح لنفوسیت، هیپر کرومازیس شدید هسته ای در گروه E_1 (H&E, 400x)

1 - indoor

2 - cross-links

3 - Albino Wistar

4 - detector tube

5 - Drager

نتایج

یافته های هیستوپاتولوژیک در گروه E₁ (۴ روز در هفته، روزی ۴ ساعت) شامل به هم ریختگی اپیتلیوم تنفسی^۱، همراه با از دست دادن مژکهای سلولهای اپی تلیال بود. ارتشاح خفیف لنفوسیتها در ناحیه زیر اپی تلیوم مشاهده گردید. همچنین هسته های سلولهای اپی تلیال دچار هایپرکرومازی بوده، تغییرات دیسپلاستیک را در حد خفیف نشان دادند (شکل ۱).

تغییرات هیستوپاتولوژیک گروه E₂ و E₃ از شدت کمتری نسبت به گروه E₁ برخوردار بود. به گونه ای که عمده تغییرات قابل مشاهده شامل به هم خوردگی نظم سلولی و به هم ریختگی اپی تلیوم همراه با به هم خوردن نظم مژه ها و ارتشاح خفیف لنفوسیتها در زیر اپی تلیوم بوده است (شکل ۲ و ۳).

هیچگونه تغییر هیستوپاتولوژیک در گروه شاهد مشاهده نشد (شکل ۴) یافته های یاد شده در هر گروه، در تمامی برشهای بافتی آن گروه دیده شد.

بحث

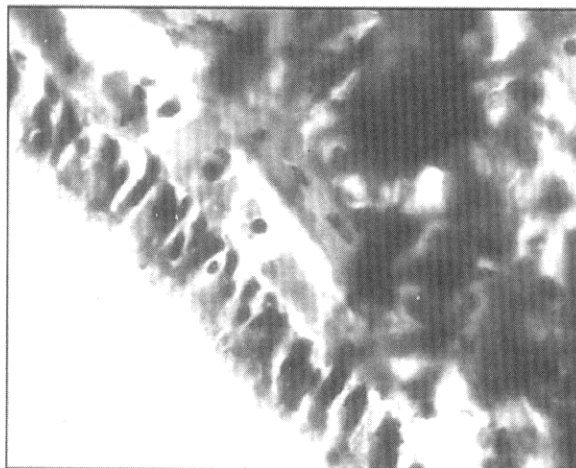
این مطالعه نشان داد که مواجهه با بخار فرمالدهید می تواند سبب تغییرات هیستوپاتولوژیک مختلف شامل ارتشاح زیر اپی تلیومی لنفوسیتها، تغییرات دیسپلاستیک، هایپرکرومازی هسته ها، بی نظمی اپیتلیوم و ازدست رفتن سازمان یافتگی طبیعی آن و نیز ریزش مژه های اپیتلیوم تنفسی نای موش آزمایشگاهی شود. به طور مشابه کاماتا^۹ و همکاران، ارتشاح سلولهای التهابی را در مخاط بینی همه گروههایی که در معرض ۰/۳ ppm، ۲ ppm و ۱۵ ppm از بخار فرمالدهید قرار گرفته بودند، گزارش کرده اند (۸). همچنین

غلظت بخار در حالت تهویه روشن ۶ ppm تا ۱/۵ ppm و در حال تهویه خاموش ۱/۵ ppm تا ۱/۹ ppm بود. دمای سالن ۲۰ تا ۲۶ درجه سانتیگراد و فشار هوای داخل سالن نیز ۷۶۰-۷۶۳ (atm) بود.

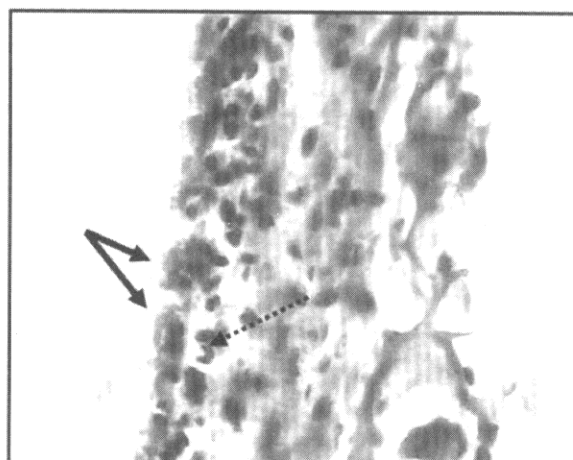
تمامی گروهها در ساعات غیرمواجهه، در اتاق مخصوص نگهداری حیوانات آزمایشگاهی، به دور از محل مواجهه که در آن، غلظت بخار فرمالدهید صفر ppm و حرارت ۲۰-۲۲ درجه سانتیگراد بود، تحت شرایط نور کافی و تهویه مناسب نگهداری می شدند. رژیم غذایی تمامی گروهها یکسان بود که در دو نوبت صبح و عصر در اختیار آنها قرار می گرفت. کلیه گروهها، آب مورد نیاز خود را به صورت ۲۴ ساعته در اختیار داشتند.

قفسهای گروههای مورد، به مدت ۱۸ هفته و براساس زمان بندی یاد شده، هر بار، بر روی میزی در ارتفاعی هم سطح اجساد و به فاصله ۱۵ سانتیمتری از آنها قرار داده می شد. در هنگام هر نوبت مواجهه گروههای مورد، گروه شاهد در اتاق مخصوص نگهداری حیوانات آزمایشگاهی قرار داشت.

پس از اتمام مدت مواجهه، هریک از رتهای گروههای شاهد و مورد با کلروفرم بیهوش شدند و پس از نخاعی کردن به طریق Delocalisation cervical، جدار توراکس باز شد و از ۵ میلیمتری بالای زاویه کارینا، نمونه های نای به طول ۴ میلیمتر جدا گردید و به مدت ۴۸ ساعت به منظور ثابت شدن در محلول کلارک^{۱۰} قرار داده شد. پس از پاساژ بافتی و قالب گیری پارافینی، ۱۰ برش از هر نمونه با ضخامت ۵ میکرومتر تهیه گردید. برشها پس از رنگ آمیزی با روش هماتوکسیلین - انوزین (H&E) توسط میکروسکوپ نوری الیمپوس^۷ در درشت نمایی های ۱۰۰×، ۲۰۰× و ۴۰۰× مورد بررسی قرار گرفتند.



شکل ۴. نمایش عدم تغییرات هیستوپاتولوژیک در گروه شاهد (عدم مواجهه، H&E، 400x)



شکل ۳. بی نظمی اپی تلیوم، ارتشاح لنفوسیت در گروه E₂ (H&E، 400x)

تقدیر و تشکر

نویسندگان مقاله مراتب تشکر و تقدیر خود را از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی گرگان بخاطر تصویب و حمایت مالی طرح، جناب آقای مهندس مولودی به خاطر اندازه‌گیری دقیق غلظت بخار فرمالدهید در سالن تشریح و نیز معاونت محترم بهداشتی دانشگاه علوم پزشکی گرگان، پرسنل بخش علوم تشریح دانشکده پزشکی و بخش پاتولوژی بیمارستان دزیانی، سرکار خانم ثریا غفاری و سرکار خانم مهندس میرنژاد بخاطر همکاری صمیمانه اعلام می‌نمایند. همچنین از جناب آقای پرفسور بلداجی استاد دانشکده شیلات دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان به خاطر راهنمایی‌های ارزنده سپاس ویژه اعلام می‌گردد.

مراجع

- 1- World Health Organization, Geneva. Formaldehyde, (Environmental health criteria, No 89). 1998.
- 2- International Agency for Research on Cancer, Lyon. Wood dust and formaldehyde. Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans. IARC. 1995; 62: 217-362.
- 3- <http://www.epa.gov/ttn/uatw/hlthef/formaldehyde.html>
- 4- Monticello TM, Swenberg JA, Gross EA, et al. Correlation of regional and nonlinear formaldehyde induced nasal cancer with proliferating populations of cells. Cancer Res. 1996; 56: 1012-22.
- 5- Berbstein RS, Staynedr LT, Elliott LJ, et al. Inhalation exposure to formaldehyde: An overview of its toxicology, epidemiology, monitoring and control. Am Ind Hyg Assoc J. 1984; 45: 778-85.
- 6- Burge PS, Harries MG, Lam WK, et al. Occupational asthma due to formaldehyde. Thorax. 1985; 40: 255-60.
- 7- Gorski P, Krokowiak A. Formaldehyde induced bronchial asthma-Does it really exist? Polish J Occup M. 1991; 4: 317-20.

ریونیتی اتسوکا^۱ و همکاران، التهاب اندک مخاط تیغه بینی را در رتهای نژاد F-۳۴۴ و رتهای BN که در معرض استنشاق بخار فرمالدهید ۱ درصد قرار گرفته بودند، گزارش کردند که با نتایج مطالعه ما مطابقت دارد (۹). بی‌نظمی سلولها و هایپرکرومازی هسته سلولهای مخاط تنفسی به همراه دیسپلازی اندک و خفیف آن که در یافته‌های ما وجود دارند، مشابه نتایج حاصل از مطالعه جاودان و همکاران بر روی مخاط بینی رتهایی بود که در معرض ۲ ppm و ۵ ppm بخار فرمالدهید قرار گرفته بودند (۱۰).

مونتریو رویوره^{۱۱} و پاپ^{۱۲} با استفاده از میکروسکوپ الکترونی، غیرطبیعی بودن مژه‌ها را در اپیتلیوم بویایی رتهایی که در معرض ۰/۵ ppm بخار فرمالدهید قرار داده شده بودند، گزارش کردند. یافته‌های مطالعه آنها، یافته‌های ما را در باره ناپدید شدن مژه‌ها در گروه E₁ و بهم ریختگی آنها در گروههای E₂ و E₃ تقویت می‌کند (۱۱). در مقابل یافته‌های مطالعه حاضر، مواجهه رتها با غلظت ۲ ppm در مطالعه ویلمر^{۱۳} و همکاران (۱۲) و مواجهه با غلظت ۱ ppm در مطالعه تسوارت^{۱۴} (۱۳) و همکاران، هیچ گونه اثرات هیستوپاتولوژیک را در مخاط بویایی آنها نشان نداد.

تغییرات هیستوپاتولوژیک در گروه E₁ (با بیشترین مدت مواجهه) نسبت به گروههای E₂ و E₃ (با مواجهه‌های کوتاهتر) شدیدتر بود. مطالعه کرنز^{۱۵} و همکاران روی مخاط بویایی رتهای مواجهه یافته با غلظتهای ۲ ppm و ۵ ppm و ۶ ppm و ۱۴/۳ ppm، نشاندهنده دیسپلازی غیرنئوپلاستیک در گروه ۱۴/۳ ppm بعد از شش ماه مواجهه بود، در حالی که در همین گروه پس از گذشت ۱۸ ماه از مواجهه، دیسپلازی نئوپلاستیک مشاهده گردید (۱۴). فرون^{۱۶} و همکاران سه گروه از رتها را به مدت ۴، ۸ و ۱۳ هفته در معرض غلظت ۱۰ ppm قرار دادند. آنها کاهش رشد را در همه گروهها گزارش کردند اما متاپلازی مختصر سنگفرشی فقط در گروه ۱۳ هفته‌ای گزارش گردید (۱۵). جاودان و همکاران رتهای آلبینو و استار را که در معرض ۲ ppm و ۵ ppm بخار قرار داده بودند به دو گروه: در معرض حاد^{۱۷} و تحت حاد^{۱۸} تقسیم کردند. یافته‌های آنان نشان داد که تغییرات هیستوپاتولوژی در گروه تحت حاد در مقایسه با گروه حاد، بسیار شدیدتر است (۱۰).

در مقابل مطالعات دیگران، در این مطالعه اثرات احتمالی فرایند سالمندی^{۱۹} و ترمیم تدریجی^{۲۰} که ممکن است در یافته‌های سایرین اثر گذاشته باشد، با در معرض قراردادن همه گروهها از شروع تا خاتمه مدت مطالعه، حذف گردید. یافته‌های این مطالعه در باره ارتباط بین تغییرات هیستوپاتولوژیک و زمان مواجهه، به یافته‌های سه مطالعه اخیر (۱۰، ۱۴ و ۱۵) شباهت دارد. بنابراین به نظر می‌رسد که شدت تغییرات هیستوپاتولوژیک با مدت زمان مواجهه با بخار فرمالدهید ارتباط مستقیم دارد.

11 - Monterio - Riviere	12 - Popp	13 - Wilmer	14 - Zwart	15 - Kerns
16 - Feron	17 - acute exposure	18 - subacute exposure		19 - aging
20 - gradual recovery				

8- Kamata E, Nakadate N, Uchida O, et al. Result of a 28-month chronic inhalation toxicity study of formaldehyde in male Fischer – 344 rats. *J Toxicol Sci*. 1997; 22: 239-54.

9- Ohtsuka R, Shuto Y, Fujie H, et al. A further comparative study on early histological changes in respiratory tract of Brown Norway and Fischer-344 rats after short-term inhalation of formaldehyde aerosol. *J Toxicol Pathol*. 1998; 11: 235-40.

۱۰- جاودان محمد، انتظاری زهرا. اثرات سیتوتوکسیک بخار فرمالدهید بر روی مخاط بینی در طی زمان ۳ و ۲۰ روز. *مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی قزوین*. ۱۳۷۸؛ دوره ۲، شماره ۸: ۱۷-۲۳

11- Monterio-Riviere NA, Popp JA. Ultrastructural evaluation of acute nasal toxicity in the rat respiratory epithelium in response to formaldehyde gas. *Fund Appl Toxicol*. 1966; 6: 251-62.

12- Wilmer JWGM, Woutersen RA, Appelman LM, et al. Subchronic (13-week) inhalation toxicity of formaldehyde in male rats: 8-hour intermittent versus 8-hour continuous exposures. *Toxicol Lett*. 1989; 47: 287-93.

13- Zwart A, Woutersen RA, Wilmer JWGM, et al. Cytotoxic and adaptive effects in rat nasal epithelium after 3-day and 13-week exposure to low concentration of formaldehyde vapour. *Toxicology*. 1988; 51: 87-99.

14- Kerns WD, Pavkov KL, Donofrio DJ, et al. Carcinogenicity of formaldehyde in rats and mice after long-term inhalation exposure. *Cancer Res*. 1983; 43: 4382-92.

15- Feron LM. Nasal tumors in rats after short-term exposure to a cytotoxic concentration of formaldehyde. *Cancer Lett*. 1988; 39: 101-11.