

KEMELERDE FORMALDEHİDİN LD50 DEĞERİNİN VE ORGANLARDA HISTOPATOLOJİK DEĞİŞİKLİKLERİN SAPTANMASI

Dr. Esin YILDIZ*, Dr. Fahrettin GÖZE*, Dr. Yusuf SARIOĞLU**

ÖZET: Bu çalışmada subkutan (sc) yolla verilen formaldehidin, çalışma laboratuvarı şartlarındaki LD50 değerini ve daha sonraki kronik uygulamada kullanılacak subletal dozu belirlemek amacıyla her biri 6 keme (sıçan, rat) içeren biri kontrol olmak üzere 7 deney grubu ile çalışıldı. Kontrol grubu kemelerde %0.9'luk NaCl solüsyonu, A, B, C, D, E, F grubu kemelere artan dozlarda, 20, 40, 80, 160, 240, 320 mg/kg tek doz formaldehid solüsyonu verilerek, 1 haftalık gözlem süresi sonunda ölen keme sayısına göre LD50 değeri 196 mg/kg, subletal doz ise 40 mg/kg olarak bulundu. Ölen kemelerin akciğer, karaciğer, dalak ve böbreklerdeki histopatolojik değişiklikler araştırıldı. Ölen kemelerin tümünün bu organlarında hiperemi ve karaciğerlerinde yaygın Kupffer hücre aktivasyonu izlendi. Kemelerdeki ölüm sebebinin nörojenik şok ve toksik şoka, Kupffer hücre aktivasyonunun ise formaldehidin toksik etkisine bağlı olabileceği sonucuna ulaşıldı.

ANAHTAR KELİMELE: Formaldehid, LD50, karaciğer, akciğer, histopatoloji.

SUMMARY: DETERMINATION OF LD50 VALUE AND HISTOPATHOLOGICAL CHANGES IN THE ORGANS IN ALBINO RATS AFTER EXPOSURE TO FORMALDEHYDE: A study was performed on seven group of Albino rats in order to determinate LD50 and sublethal concentration of the formaldehyde. Albino rats were exposed 20, 40, 80, 160, 240, 320 mg/kg subcutaneous formaldehyde solution for a unique dose, a control group was exposed subcutaneous 0.9 % NaCl solution and were observed later for a week. LD50 value of formaldehyde was calculated as 196 mm/kg, sublethal dose was found as 40 mg/kg after a week. Histopathologic changes in the liver, lung, kidney, spleen in dead rats. The findings showed hyperemia in all of organs and Kupffer cells activation in the liver. It was claimed that neurogenic and toxic shock caused deaths, direct action of the formaldehyde caused Kupffer cells activation.

KEY WORDS: Formaldehyde, LD50, liver, lung, histopathology.

GİRİŞ

Canlılar üzerine formaldehidin etkisi genellikle inhalasyon yolu ile olduğu için, deneysel çalışmalar inhalasyon yolu ile üst solunum yollarında meydana gelen değişiklikler üzerinde yoğunlaşmıştır. Bu çalışmalar akut, subakut ve kronik olarak ayrılabilir (1-8). Tez doz formaldehit verilmesinde sonra oluşan akut toksisite bulguları çeşitli hayvan türlerinde çalışılmıştır (6). Formaldehidin 120 mg/m³ üzerindeki yüksek konsantrasyonları hipersalivasyon, akut dispne, kusma ve muskuler spazmlara, sonuçta da deney hayvanlarının ölümüne neden olmuştur (6,9).

İlaçlar ve kimyasal maddelerin akut toksisitesini değerlendirmek için nivel bir gösterge olan medyan letal doz ve konsantrasyon (LD50, LC50) formaldehin için de çeşitli hayvan türlerinde inhalasyon, oral, intravenöz (iv) ve sc uygulama yollarının herbirinde ayrı ayrı olarak belirlenmiştir. Subkutan olarak verilşte LD50'nin 420 mg/kg olduğu bildirilmektedir (6).

Günlük yaşamda, formaldehit ile yüksek doz akut etkileşimlerden daha çok, düşük doz kronik etkileşimler önem taşımaktadır. Deneysel çalışmalar da çoğunlukla subakut ve kronik etkileşimlerde ortaya çıkan değişiklikleri araştırmaya yöneliktir (1,3,6,9,10-12).

Bu çalışma formaldehidin sc verilşte, çalışma laboratuvarı şartlarındaki LD50 değeri yanısıra, multipl dozlardaki geç dönem organ bulgularını araştırmak için planlanan ikinci bir çalışmada kullanılacak subletaldozu belirleme amacı ile planlanmıştır. Ayrıca, ölen kemelerin akciğer, karaciğer, dalak ve böbreklerdeki histopatolojik değişiklikler araştırılarak akut toksik etki de belirlenmeye çalışılmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Bu çalışmada, C. Ü. Tıp F. Araştırma Laboratuvarında yetiştirilen, ağırlıkları 70-150 gr arasında değişen normal oda ısısı ve neminde tutulan, Sivas Yem Fabrikası tarafından üretilen

len standart yem ile beslenen ve musluk suyu verilen albino kemeler kullanıldı. Her biri 6 keme içeren birisi kontrol grubu olmak üzere 7 deney grubu hazırlandı. Her bir grup içerisindeki keme ağırlıklarının birbirlerine yakın olmasına dikkat edilerek, her biri kemeye verilecek formaldehit miktarı mg/kg olarak, grup ortalama ağırlığına göre belirlendi. Kontrol grubu kemelere 0.2 ml % 0.9 NaCl solüsyonu, A,B,C,D,E,F grubu kemelere ise, serbest piyasadan temin edilen Merck firmasına ait formaldehidin %35'lik sudaki solüsyonu (30.03 gr/mol ve 1.08 kg/lt) kullanılarak hazırlanan, sırasıyla 20,40,80,160,240,320 mg/kg formaldehit içeren solüsyonlar steril şartlarda hazırlanarak, 0.2 ml.lik volüm içerisinde tek doz halinde, sc olarak verildi.

Yedi gün takipten sonra her bir gruptan ölen ve yaşayan kemelerin sayısı, ölüm zamanları tesbit edilerek veriler düzenlendi, LD50 tablosu hazırlandı. Grafik yöntemi ve probit Log grafik yöntemi (13) kullanılarak LD50 değeri belirlendi.

Ölen kemelerin ölüm tesbit edilir edilmez otopsileri yapıldı. Akciğer, karaciğer, dalak ve böbrekleri makroskopik incelemelerden sonra tesbit, takip ve HE ile boyama işlemlerinden sonra ışık mikroskopunda incelendi.

BULGULAR

Çalışmada, B,C,D,E grubu kemelerin tümünde görülen ilk bulgu, enjeksiyon bölgesinde küçük bir alanda beyaz renkli tüylerin sararmasıydı. Kontrol, dozun çok düşük olduğu A ve tümü ilk 5 dakikada ölen F grubu kemelerde bu bulgu izlenmedi.

Gözlem süresi boyunca kontrol, A ve B grubu sıçanlarda ölüm olmazken, C grubundan 1, D grubundan 2, E grubundan 4 ve F grubundan ise 6 keme öldü. Deney grubu kemelerde artan dozlarda görülen ölüm oranları probit değerleri (13) Tablo 1'de gösterilmektedir.

Subkutan olarak verilen formaldehidin LD50 değeri, doz-ölüm yüzdesi ile doz-probit değeri grafikleri (Şekil 1-2) hazırlanarak, grafik yöntemi ile 198 mg/kg ve Log grafik yöntemi ile 196 mg/kg olarak bulundu (13). Deney grubu kemelerden hiçbirinde ölümüne sebep olmayan en yüksek doz olan 40

* Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı

** Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı

TABLO 1. KONTROL VE ARTAN DOZLARDA FORMALDEHİDİN SUDAKİ SOLÜSYONU VERİLEN DENEY GRUBU RATLARDA GÖRÜLEN ÖLÜM ORANLARI VE PROBİT DEĞERLERİ

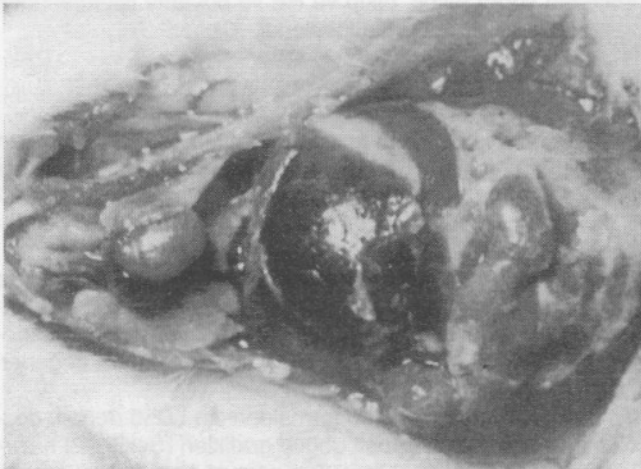
Grup	Rat Sayısı	Doz (mg/kg)	Ölen Rat Sayısı	Canlı Rat Sayısı	Ölüm oranı %	Probit Değeri
Kontrol	6	-	-	6	0	0
A	6	20	-	6	0	0
B	6	40	-	6	0	0
C	6	80	1	5	17	4.05
D	6	160	2	4	34	4.59
E	6	240	4	2	68	5.47
F	6	320	6	-	100	-

mg/kg ise, planlanan ikinci çalışmada kullanılacak subletal doz olarak belirlendi.

Ölen kemelerden, C grubundaki 1 keme 48. saatte, D grubundan iki kemenin her ikisi de 24. saatte, E grubundaki 2 keme 24. saatte, 1 keme 48. saatte, 1 keme ise 60. saatte ölümler, F grubundaki kemelerin tümü ilk 5 dakika içinde kas sapzımları ile öldü.

Ölen toplam 13 kemenin otopsileri ölüm tesbit edilir edilmez yapıldı. Yaşayan kemeler ise ikinci çalışmada kullanılmak üzere ayrıldı. Onüç kemenin tümünde de enjeksiyon bölgesine uyan subkutan dokunun hiperemik, plevra ve peritonun ise tümü ile sarı-pembe renkli, parlak görümlü olup seröz içerdiği dikkati çekti. Kemelerin tümünde her iki akciğer ve karaciğer hiperemik, barsaklar distandü görünümde idi (Resim 1).

Bu kemelerin akciğer, karaciğer, dalak ve böbrek dokularından hazırlanan kesitlerde, akciğer, dalak ve böbrek dokularının tümünde hiperemi yanısıra akciğer ve böbreklerin interstisyumlarda serbest kanama alanları izlendi. E grubundan ölen 4 kemedan 1'inin akciğerinde ise ek olarak belirgin intraalveoler ödem dikkati çekti (Resim 2). Aynı keme ve E grubundan başka bir kemenin akciğerleri ile, F grubundan ölen 2 kemenin akciğerlerinde fokal amfizematöz alanlar izlendi (Resim 2). E grubundan intraalveoler ödem izlenen keme ile aynı gruptan bir başka kemenin böbreklerinde fokal tubuler nekroz alanları (Resim 3) ile F grubundan ölen kemelerden 3'ünde böbrek interstisyumunda fokal mononükleer iltihabi infiltrasyon saptandı.



Resim 1. Ön çalışmada ölen D grubu kemelerden birinin seröz zarları ile iç organlarının makroskopik görünümü.

Ölen 13 kemenin tümünün karaciğerlerinde hiperemi ile az sayıda tek hücre nekrozları, D grubundan 1, E grubundan 1, F grubundan ise 2 kemedan sinüzoidlerde parlak eozinofilik globüller şeklinde asidofilik cisimler izlendi (Resim 4). E grubundan 1 keme haricinde tüm kemelerde karaciğerde görülen diğer bir bulgu periportal (Z1), midzonal (Z2) ve perisantral (Z3) izlenebilen az sayıdaki fokal nekrozlardı (Resim 4).

Kupffer hücrelerinde hiperplazi, bu hücrelerin iğsi şeklini

kaybedip oval veya yuvarlak şekil alması ve sitoplazmalarının geniş granüle görünümünde olması tüm kemelerin karaciğerlerinde dikkati çeken bir başka histolojik bulgu idi (Resim 4,5).

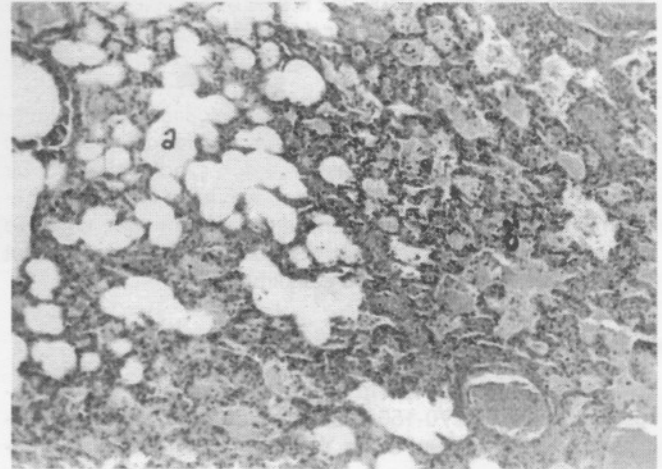
Çalışmada, C grubundan ölen bir kemedan D grubundan 2 kemedan F grubundan 2 kemedan, karaciğerde fokal, portal alanlara sınırlı mononükleer infiltrasyon izlendi (Resim 6).

D grubundan 1 kemedan portal alanda, F grubunda ise 2 kemedan, portal alan yanısıra Z2 ve Z3'de lokalize aktive Kupffer hücrelerine benzer morfolojideki hücrelerden oluşan mikrogranulomların varlığı dikkati çekti (Resim 6).

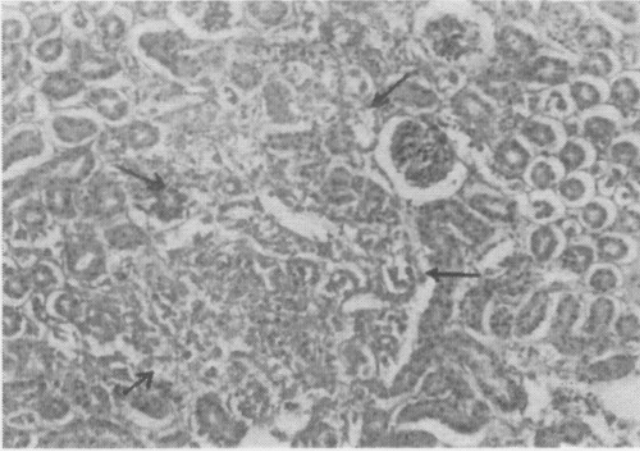
Son bir bulgu olarak C grubundan 1 kemedan D grubundan 1 kemedan, E grubundan 2 kemedan, karaciğer kapsülünde kısmen organize, PMNL'ler ve iltihabi hücre artıklarından oluşan küçük abse odakları izlendi.

TARTIŞMA

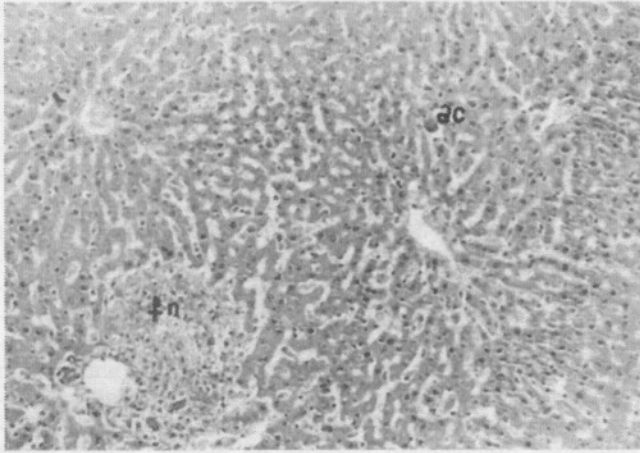
Çalışmadaki ilk bulgu B, C, D, E grubu kemelerin sc enjeksiyon bölgesindeki tüylerinin sararmasıydı. Till ve ark. formaldehidin keme tüyünün yapısında yer alan "kynurenine" ile reaksiyon vererek, tüyün beyaz rengini sarıya dönüştürdüğünü bildirmişlerdir (6). Bu bulgu diğer bazı çalışmalarda da gözlenmiştir (7,8). Bu çalışmada sc olarak verilen formaldehidin enjeksiyon bölgesi üzerindeki tüylerin yapı elemanları ile direkt reaksiyona girerek rengini sarıya dönüştürüldüğü söylenebilir.



Resim 2. Akciğerde belirgin intraalveoler ödem (ö), fokal amfizem (a) (HE x75).



Resim 3: Böbrekte fokal tübüler nekroz (oklarla işaretli) (HE x150).



Resim 4. Karaciğerde sinüzoidde parlak eozinofilik görünümde asidofilik cisim (ac), Z1'de fokal nekroz (fn) odağı ve Kupffer hücrelerinde hiperplazi (HE x150).

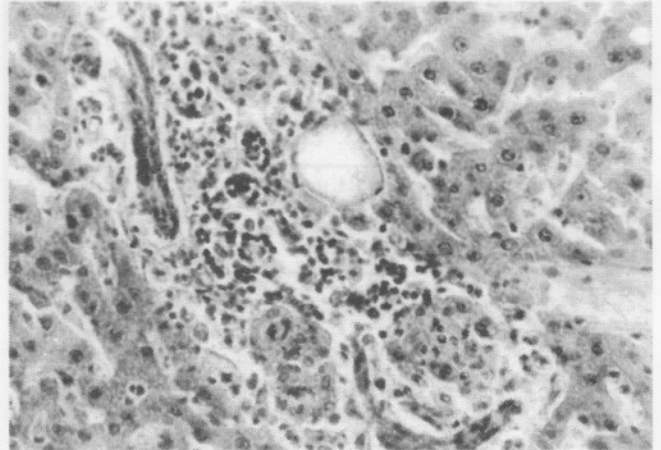
Çalışmada, albino kemelere sc olarak verilen formaldehidin LD50 değeri 196 mg/kg olarak bulundu. Bir çalışmada, kemelere sc formaldehit uygulamasında LD50 değeri 420 mg/g olarak bildirilmektedir (6). Upreti ve ark. kemelerde formaldehidin toksikokinetikleri ve moleküler ilişkilerini inceledikleri başka bir çalışmada, formaldehidin eliminasyon hızının önceki çalışma sonucundan farklı oluşunu kullanan keme ırkının farklı oluşuna bağlamaktadırlar (15). LD50 değerindeki bu farklılık, benzer şekilde kullanılan keme ırkındaki dolayısıyla bunların metabolizmasındaki farklılık yanısıra laboratuvar koşullarındaki farklılığa da bağlanabilir. Deney hayvanlarında formaldehidin yüksek dozdaki akut verilisinin hipersalivasyon, akut dispne, kusma, muskuler spazmlara sonuçta da ölüme sebep olduğu bildirilmektedir (6). Ancak ölen deney hayvanlarında histopatolojik düzeyde doku değişikliklerini inceleyen bir çalışmaya rastlanmadı. Akut formaldehit uygulanan kemelerden, ölen 13 kemenin akciğer, karaciğer, böbrek ve dalak dokuları morfolojik ve histolojik yönlemlerle incelenerek değerlendirildi.

Çalışmada C, E gruplarındaki keme ölümleri ilk 24 saat sonra olurken, en yüksek dozu alan F grubundaki 6 kemenin tümü de ilk 5 dk. içinde kas spazmları ile öldü. Otopsi yapılan 13 kemenin tümünde de saptanan morfolojik ve histopatolojik bulgular, plevra ve peritonda seröz efüzyon,

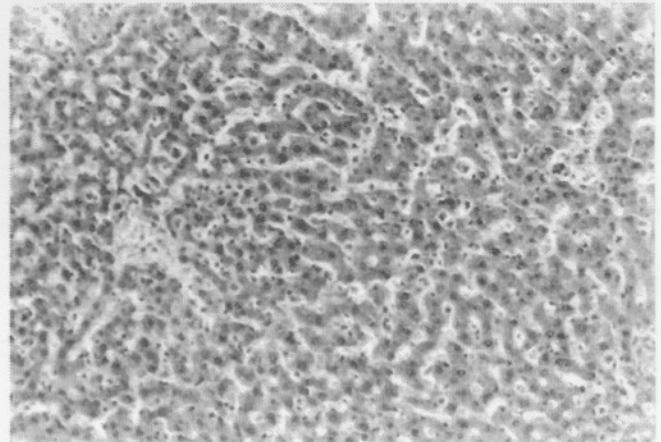
akciğerler, karaciğer, böbrekler ve dalağın koyu kırmızı hiperemik görünümü, histopatolojik incelemede akciğerler, karaciğer, böbrekler ve dalakta belirgin hiperemi, akciğerler ve böbrekte ise interstisyumda serbest kanama alanları olarak kaydedildi. Ölümleri 24 saat sonrasında meydana gelen kemelerden, en yüksek dozu alan E grubundan 4 kemeden 1'nin akciğerlerinde ise hiperemi ve kanamaya ek olarak belirgin intraalveoler ödem izlendi. aynı keme ile aynı deney grubundan bir başka kemenin böbreklerinde fokal tübüler nekroz alanları görüldü. On üç kemenin tümünün karaciğerlerinde tek hücre nekrozları ile her üç karaciğer zonunda da fokal nekrozlar ve farklı deney gruplarından 6 kemede tek tük asidofilik cisimcikler yer almaktaydı.

Akciğerlerde hiperemi, interstisyel kanama ve intraalveoler ödem, böbreklerde interstisyel kanama ve akut tübüler nekroz, karaciğerdeki tek hücre nekrozu ve fokal nekrozlar vücut homeostasisinin bozulması sonucu meydana gelen hemodinamik ve vasküler kollaps olan şok'da görülebilen histopatolojik bulgulardır (16,17).

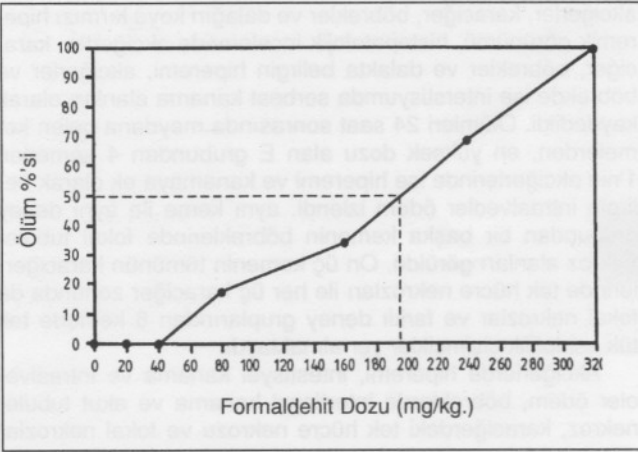
Çalışmada, ilk 24 saatten sonra ölen C, D, E grubu kemelerde, formaldehidin direkt toksik etkisi veya dokulardaki yaygın interstisyel kanama ile vücut homeostasisinin bozulması ve bunu takiben gelişen şok sonucu ölümlerin meydana geldiği söylenebilir. Bir çalışmada, belirli bir formaldehit



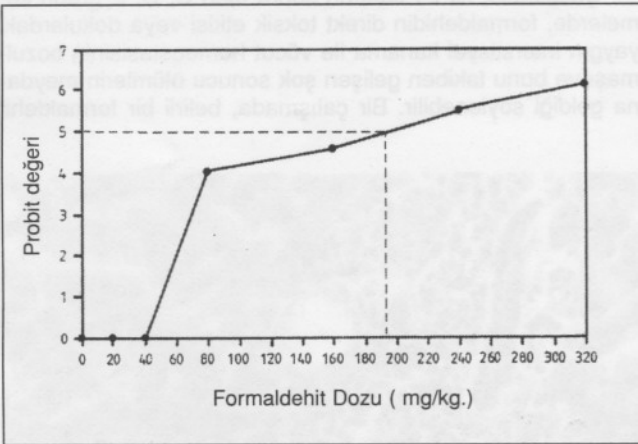
Resim 5. Karaciğerde sinüzoidlerde sayıca artmış, oval veya yuvarlak yekilli, iri granüle sitoplazmalı Kupffer hücreleri (HE x150).



Resim 6. Karaciğerde portal alana sınırlı mononükleer iltihabi infiltrasyon ve portal alanda histiositlerden oluşan mikrogranulomlar (HE x300).



Şekil 1. Doz ölüm yüzdesi grafiği.



Şekil 2. Doz probit değeri grafiği

dozundan sonra detoksifikasyon mekanizmalarının doyunluğa ulaştığı ve bundan sonraki yüksek dozlarda toksisitenin daha belirginleştiği ileri sürülmektedir (18). Wilmer ve ark. sitotoksik etkilerde yüksek konsantrasyonların, total dozdan çok daha önemli olduğunu göstermişlerdir (11). Buna göre çalışmada yüksek dozda formaldehit solüsyonu verilen C, D, E grubu kemelerde ölüm sebebi, biyokimyasal detoksifikasyon mekanizmalarının doyunluğa ulaşması sonucunda, detoksifiye edilemeyen formaldehit olabilir.

Vücudun herhangi bir bölümüne karşı olan mekanik zedelenme sonucu refleks vazodilatasyon, bunun devamında kan basıncında düşme, vasküler kollaps, bilinç kaybı ve bazen de ölüm meydana gelir. Bu durum primer şok veya nörolojik şok olarak bilinir (14). Çalışmada 320 mg/kg dozda formaldehit verilen deney grubundaki kemelerin tümü ilk 5 dakika içerisinde kas spazmları ile öldü. Formaldehit sc uygulamada ağrıya yol açan ve bu nedenle birtakım nörolojik çalışmalarda ağrı oluşturmak amacı ile kullanılan bir maddedir (19-22). Yüksek doz grubunda meydana gelen keme ölümünü, sc formaldehit enjeksiyonu sonucunda oluşan refleks vazodilatasyon ve vasküler kollaps ile karakterli nörojenik şoka bağlamak mümkündür.

C grubundan 1, D grubundan 2, F grubundan 2 kemenin, karaciğerlerinde fokal, portal alanlara sınırlı mononükleer iltihabi infiltrasyon mevcuttu. Ancak bu kemelerde seyrek tek

hücre nekrozları ve fokal nekrozlar dışında yaygın bir parankim hasarı yoktu. Portal alanlara sınırlı mononükleer iltihabi infiltrasyon akut ve kronik hepatitlerde, perikolanjit ve kolanjit durumlarda ortaya çıkan histopatolojik bir bulgudur. Ancak portal alanlarda Akut hepatitte mononükleer iltihabi ek olarak, lobüler düzensizlik oluşturan difüz hepatosit zedelenmesi, Kupffer hücrelerinde reaktif değişiklikler ve rejener hepatositler, kronik aktif hepatitte ise akut hepatit bulgularına ek olarak güve yeniği nekroz ve köprüleme nekrozu gibi daha ileri hepatosit hasarı, olay kolanjit ise portal alanlarda safra kanal proliferasyonu, safra duktusları lümeninde de iltihabi elemanlar ve karaciğerde kolestaz şeklinde histopatolojik bulgular da izlenir (23-25). Safra duktusları lümenlerinde iltihabi elemanlar ve belirgin karaciğer parankim hasarı olmaksızın, portal alanlarda mononükleer iltihabi infiltrasyonun varlığı "perikolanjit" olarak bilinir ve patogenezi açık olmayan bir antitedir (23). Karaciğerlerinde fokal ve portal alanlara sınırlı mononükleer infiltrasyonu izlediğimiz kemelerde belirgin parankim hasarı olmaması nedeni ile bu değişiklikler perikolanjit olarak yorumlandı. Upreti ve ark. 14 C-formaldehit ile yaptıkları bir çalışmada karaciğer, böbrek ve gastrointestinal kanalda saptadıkları yüksek orandaki 14 C aktivitesi nedeni ile, formaldehit ve/veya onun metabolitlerinin safra yoluyla resekresyonu sonucunda intestinal mukoza iritasyonuna yol açabileceğini ileri sürmüşlerdir (15). Buna göre perikolanjit saptanan kemelerde primer olay formaldehidin veya metabolitlerinin neden olduğu safra iritasyonu olabilir.

Ön çalışmada 13 kemenin tümünün karaciğerlerinde seyrek tek hücre nekrozları ve fokal nekrozlar yanısıra Kupffer hücre aktivasyonu olması, ayrıca D grubundan bir keme de periportal lokalizasyonlu, F grubundan ise 2 keme de midnoz lokalizasyonlu aktive Kupffer hücrelerine benzer morfolojideki hücrelerden oluşan az sayıdaki mikrogranulomların varlığı dikkati çekti. Karaciğerde granulomlar enfeksiyöz sebeplerde olabileceği gibi, yabancı cisim granulomları, hipersensitivite granulomları şeklinde de olabilir. Ayrıca çeşitli ilaçlar ve kimyasal maddelerle de epitelioid hücreler ve histiositlerden oluşan non kazeifiye granulomlar görülebilir. Hepatik granulomların %20'sinde belirli bir sebep bulunamamış ve bunlar etyolojisi bilinmeyen granulomlar sınıfına sokulmuştur (25). Çeşitli formaldehidin peritoneal makrofajlardan serbest oksijen radikali olan hidrojen peroksid salınımını, kontrol grubuna göre iki kat artırdığı gösterilmiştir (26,27). Kupffer hücreleri de peritoneal makrofajlar gibi mononükleer fagositler sistem (MFS)'e dahildir (28-30). Burada saptanan Kupffer hücre aktivasyonu ve mikrogranulomlar, formaldehidin direkt etkisine bağlı olabilir. Histiositlerden salınan hidrojen peroksid gibi reaktif oksijen radikalleri bir yandan bakteri fagositozu, tümör hücre lizisi gibi organizmaya yararlı işlevleri gerçekleştirirken, diğer yandan organizmanın kendi hücrelerinde membran, protein ve DNA hasarı yaparak hücre zedelenmesine yol açabilir (26,28,30). Karaciğer parankiminde saptanan ve hepatosit zedelenmesinin görüntüleri olan tek hücre nekrozları ve fokal nekrozların gelişiminde Kupffer hücrelerinden salınan hidrojen peroksidin de etkisi olabilir. Hepatosit zedelenmesinin diğer nedeni ise, formaldehidin detoksifikasyon mekanizmalarının doyunluğa ulaşması sonucu serbest kalan formaldehidin direkt olarak hepatositlere toksik etkisi olabilir. Nitekim Strubert ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada direkt olarak formaldehit etkisindeki keme karaciğerinden hepatotoksisite göstergesi enzimler olan GTP ve SDH'nin salınımında artma, hepatic glutatyonda azalma yanısıra ultrastrüktürel seviyede hepatoselüler hasar olduğu gösterilmiştir (31).

NOT: Bu çalışma, ilk yazarın uzmanlık tezinin bir bölümü (ön çalışması)'ndan alınmış olup C.Ü. Tıp Fak. Araştırma Fon Saymanlığınca maddi olarak desteklenmiştir. Ayrıca İzmir-Kuşadası'nda yapılan XI. Ulusal Patoloji Kongresinde sözlü bildirisi olarak sunulmuştur.

Teşekkür: Çalışmamızın proje hazırlanması ve yazım aşamasındaki katkılarından dolayı C.Ü. Tıp Fak. Patoloji Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Handan AKER'e teşekkür ederiz.

KAYNAKLAR

- Bhalla DK, Mahavni V, Ngyen T, Mc Clure T. Effects of acute exposure to formaldehyde on surface morphology of nasal epithelia in rats. *J Toxicol Environ Hlth* 1991; 33 (2): 171-88.
- Dallas CE, Mellard DN, Theiss JC, Pentecost AR, Fairchild EJ. Distribution of DNA and RNA content in bone marrow and alveolar macrophages of rats subchronic inhalation of formaldehyde. *Environ Res* 1987; 43 (1): 191-202.
- Feron VJ, Brunyntjes JP, Wouterson RA, Immel HL, Appelman LM. Nasal tumors in rat after short term exposure to a cytotoxic concentration of formaldehyde. *Cancer Lett* 1988; 39:101-111.
- Holmstrom M, Rynnel Dagoo B, Wilhelmson B. Antibody production in rat after long term exposure to formaldehyde. *Toxicol Applied Pharmacol* 1989;100:328-33.
- Sterling TO, Weinkam JJ. Reanalysis of lung cancer mortality in a national cancer institute study on "mortality among industrial workers exposed to formaldehyde". *Exp Pathol* 1989;37:128-32.
- World Health Organisation and published under the joint sponsorship of the United Nations environmental programme the International Labour Organisation. *Formaldehyde: Environmental health criteria 89*. First ed. Geneva: WHO 1989: 3,176.
- Vural G. Formaldehidit soluyan sıçanlarda görülen histopatolojik değişiklikler. *Türk Patoloji Dergisi* 1993; 9 (1): 42-47.
- Aktan ZA, Önal B, Gövs F, Seyfioğlu R, Şenyılmaz Y, Günel Ö. Formaldehidin beyaz sıçanların akciğer dokusunda oluşturduğu histopatolojik değişiklikler. *İzmir Göğüs Hastanesi Dergisi* 1995; 9 (1): 21-31.
- Bolt HM. Experimental Toxicology of formaldehyde. *J Cancer Res Clin Oncol* 1987; 113:305-9.
- Morgan KT, Gross EA, Patterson DL. Distribution, progression and recovery of acute formaldehyde-induced inhibition of nasal mucociliary function in F-344 rats. *Toxicol Appl Pharmacol* 1986;86(3):448-56.
- Wilmer JMGM, Wouterson RA, Appelman LM, Leeman WR. Subchronic (13-week) inhalation toxicity study of formaldehyde in male rats: 8 hour intermittent versus 8 hour continuous exposure. *Toxicology Letters* 1989;47:287-93.
- Zwart A, Wouterson RA, Wilmer JWGM, Spit BJ, Feron VJ. Cytotoxic and adaptive effects in rat nasal epithelium after 3 day and 13 week exposure to low concentration of formaldehyde vapour. *Toxicology* 1985; 51:87-99.
- Sümbüloğlu K, Sümbüloğlu V, Biyoistatistik. Ankara: Çağ Matbaası 1987; 201-13.
- Till HP, Wouterson RA, Feron VJ. Evaluation of the oral toxicity of acetaldehyde and formaldehyde in a 4 week drinking water study in rats. *Food Chem Toxic* 1988; 26 (5): 447-52.
- Upreti RK, Farouqi MYH, Ahmed AE, Ansari GAS. Toxicokinetics and molecular interaction 14 C-Formaldehyde in rats. *Arch Environ Contam Toxicol* 1987;16:262-73.
- Coteran RS, Kumar V, Robbins SL. Robbins pathologic basis of disease: Hemodynamic disorders, thrombosis, and shock. 5 th ed. Philadelphia: WB. Saunders Company, 1994;93-122.
- Hirsch CS, Zumwalt RE. Injuries caused by physical agents. In: Kissane JM ed. *Anderson Pathology*. 10 th ed. St. Louis: The C.V. Mosby Company. 1995: 11-45.
- Buncher CR. Did formaldehyde cause lung cancer? *J Occup Med* 1989; 31 (11):885.
- Bourgoin S, Bars DL, Clot AM, Hamon M, Cesselin F. Subcutaneous formalin induces a segmental release of Met-enkephalin like material from the rat spinal cord. *Pain* 1990; 41 (3): 323-9.
- Pertova A, Tukey T. Effect of subcutaneous formalin treatment on responses to bulboreticular nociceptive neurons in rat. *Brain Res Bull* 1989;23 (6):457-62.
- Porro CA, Cavazzuti M, Galetti A, Sassatelli L. Functional activity mapping of the rat brainstem during formalin-induced noxious stimulation. *Neuroscience* 1991;41(2-3):667-80.
- Porro CA, Cavazzuti M, Galetti A, Sassatelli L, Barbieri FC. Functional activity mapping of the rat spinal cord during formaldehyde induced noxious stimulation. *Neuroscience* 1991;41(2-3):655-65.
- Crawford JM, Cotran RS. The liver and biliary tract. In: Schoen FJ ed. *Robbins pathologic basis of disease: 5 th ed*. Philadelphia: WB. Saunders Company 1994: 831-96.
- Ruebner BH, Montgomery CK, French SW. *Diagnostic Pathology of the liver and biliary tract: Acute hepatitis*. First ed. New York: Hemisphere publishing Corporation. 1991; 49-63.
- Ruebner BH, Montgomery CK, French SW. *Diagnostic Pathology of the liver and biliary tract: Chronic hepatitis, granulomatous diseases of the liver*. First ed. New York: Hemisphere Publishing Corporation, 1991: 65-122.
- Adams DO, Hamilton DA, Laur LD, Dean JH. The effect of formaldehyde exposure upon the mononuclear phagocyte system mice. *Toxicol Applied Pharmacol* 1987; 88:165-74.
- Dean JH, Lauer LD, House RV, Murray MJ, Stilman WS, Irons RD, Steinhagen WH, Phelps MC, Adams DO. Studies of immune function and host resistance in B6C3F1 mice exposed to formaldehyde. *Toxicol Appl Pharmacol* 1984; 72: 519-29.
- Cotran RS, Kumar V, Robbins SL. *Robbins pathologic basis of disease: Cellular injury and cellular death*. 5 th ed. Philadelphia: WB. Saunders Company, 1994:1-34.
- Luigi V, Gonda M, Latham PS. Identification and functional characteristics of monocytes/macrophages. In: Jones TC, Ward JM, Mohr U, Hund eds. *Hemopoietic system: Monographs on pathology of laboratory animals*. Sponsored by The International Life Sciences Institute. First ed. Berlin: Springer Verlag 1990:79-87.
- Male D, Roitt PI. Cells involved in the immune response. In: Roitt I, Brostoff J, Male D. *Immunology*. Second ed. London: Churchill Livingstone 1989;2:1-18.
- Strubelt O, Younes M, Pentz R. Mechanistic Study on formaldehyde induced hepatotoxicity. *J Toxicol Environ Health* 1989;27:351-6.