جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

مقاله تحقیقی

بررسی اثر فرمالدهید بر توبولهای اسپرم ساز موش Balb/c

مهدی جلالی.Ph.D *، محمد رضا نیکروش.Ph.D *، علیرضا فاضل.Ph.D *
* گروه آناتومی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی مشهد
تاریخ وصول: فروردین‌ماه ۸۷، تاریخ پذیرش: خردادماه ۸۷

چکیده

هدف: بررسی اثر فرمالدهید بر توبولهای اسپرم ساز در حیوان آزمایشگاهی

مواد و روشها: در این پژوهش از ۲٤ موش نر ۲۰ روزه نژاد Balb/c استفاده شد که به صورت تصادفی در دو گروه تجربی و کنترل قرار گرفتند. گروه کنترل برای مدت ۲۰ روز و به صورت یک روز در میان به میزان ۲۵ mg/kg/. فرمالدهید مورد تجویز داخل صفاقی قرار گرفتند و مشابه این عمل در گروه کنترل فقط با مقدار مشابهی از سرم فیزیولوژی انجام گرفت. پس از پایان دوره همهٔ نمونه‌ها پس از بیهوشی قطع نخاع شده و بیضه‌های آنان پس از آماده سازی بافتی مورد مطالعه هیستوشیمیایی قرار گرفت.

یافته‌ها: در این مطالعه همچنین مشخص شد که در گروه تجربی، میانگین قطر داخلی مجاری اسپرم ساز در مقایسه با گروه کنترل به شکل معنی داری کاهش نشان می‌دهد در حالی که میانگین قطر خارجی توبولهای دو گروه مشابهت داشت. علاوه بر این میزان تکثیر سلولهای جنسی در رده‌های اسپرماتوسیت I و II در گروه تجربی نسبت به کنترل دارای کاهش معنی داری است.

نتیجه‌گیری: پژوهش حاضر بر این موضع دلالت دارد که تجویز فرمالدهید می‌تواند بر ساختار دستگاه تولید مثلی جنس نر اثر نموده و روند اسپرماتوژنز را نیز تحت تاثیر قرار دهد.

کلید واژه‌ها: فرمالدهید، مطالعه هیستوشیمیایی، اسپرماتوژنز، موش

مقدمه

از میان ترکیبات شیمیایی متعددی که امروزه در جهان تولید می‌شود فرمالدهید یکی از موادی است که کاربردهای مختلف و فراوان دارد. این ماده در شرایط متعارف به صورت گاز تقریباً بی رنگ وبا بوی زننده وتحریک کننده است و نوع خالص آن تمایل به پلیمریزه شدن دارد. از این ترکیب چه به صورت مستقیم یا رزین‌های محتوی فرمالدهید در تولیدات مختلفی از جمله پلیمرهای شیشه ای، مواد منفجره و نخ مصنوعی استفاده می‌شود [۱]. همچنین به عنوان ضدعفونی کننده و میکروب کش و در بعضی خوشبو کننده‌ها استفاده می‌شود [۲]. این ماده همچنین در صنعت کشاورزی به عنوان ضدعفونی کننده و ضد قارچ برای جلوگیری از فساد بذرهای گیاهی و غلات و تولید حشره کشها نیز کاربری دارد. علاوه بر این در فرایندهای مختلف دیگری از جمله صنایع غذایی،

آدرس مکاتبه: مشهد، بلوار وکیل آباد، مقابل پارک ملت، دانشکده پزشکی، گروه آناتومی
E-mail: nikravesh@hotmail.com

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

پالایش فرآورده‌های نفتی، داروسازی و صنعت نساجی دارای اهمیت انکار ناپذیر است [۳].

شایان ذکر است که این ترکیب سمی نسبتا فرار بوده و از طریق استنشاق یا تماس پوستی وچشمی سریعاً جذب می‌شود. تحقیقات نشان داده است که حتی غلظت بسیار اندک این ماده در محیط کار می‌تواند به سردرد، رینیت و تنگی نفس ودوزهای بالای آن به تحریک شدید غشاهای مخاطی، ریزش اشک و آزارهای سیستم تنفسی مثل برونشیت و ادم ریوی منجر شود [٤]. به اعتبار اینکه بخارفرمالدهید سنگین تر از هواست؛ حتی می‌تواند در محیط‌های بسته و با تهویه ناکافی سبب خفگی شود[٤].

از سوی دیگر باید در نظر داشت که زمانی که یک جمعیت سنی متفاوت در معرض مقادیر یکسان فرمالدهید قرار گیرند، کودکان نسبت به بزرگسالان دوزهای بیشتری از آن دریافت می‌کنند. زیرا سطح ریه آنها نسبت به وزنشان و نسبت حجم دقیقه ای ریه‌ها به وزن بدنی آنها نیز بیشتر است [۵]. از سوی دیگر در یک مکان معین ممکن است کودکان در معرض سطوح بالاتری از فرمالدهید نسبت به بالغین قرار گیرند و این به دلیل قد کوتاه و نزدیکی آنها به زمین است و در نتیجه غلظت بیشتری از فرمالدهید در اطرافشان یافت می‌شود [٦ و ۷]. امروزه بسته به نوع کاربرد، استفاده از آن هم به صورت گاز وهم به صورت محلول رایج است و در اغلب موارد به صورت محلول در آب با غلظتهای مختلف مورد استفاده قرار می‌گیرد. به لحاظ اینکه از این ماده شیمیایی درصنعت، تهیه لوازم خانگی، لوازم بهداشتی و آرایشی در سطح وسیعی استفاده می‌شود [۸]، در زندگی امروزی بسیاری از انسانها به اعتبار نوع شغل یا محیطی که در آن به سر می‌برند به صورت مستقیم یا غیر مستقیم در معرض استنشاق یا تماس با این ترکیب قرار دارند [۹]. اگرچه حد اقل دوز تاثیر گذار فرمالدهید در هوای استنشاقی برای انسان ۰/۵ میلی گرم بر متر مکعب است اما بسیاری از مطالعات نشان می دهد که سطح فرمالدهید دربعضی از محیطهای شغلی مثل آزمایشگاههای تشریح، کارخانجات صنایع چوبی و پلیمری و لوازم دارویی بسیار بیشتر از این مقدار تخمین زده می‌شود [۱۰]. در مطالعات قبلی بیشتر به آثار این ترکیب بر سیستمهای تنفسی [۱۱ و ۱۲]، گوارشی [۱۳]، قلبی عروقی [۱۷-۱٤] و عصبی [۱۸ و ۱۹] شده است. در عین حال گزارشهای معدودی وجود دارد که که اثر فرمالدهید را بر سیستم ادراری و تناسلی جوندگان کوچک مورد تایید قرار می‌دهد [۲۰ و ۲۱]. در گزارشهای منتشرشده در طول دو دهه اخیر تاکید شده که مواد شیمیایی مختلفی وجود دارد که ساختمان و عمل سیستم ادراری و تناسلی را تحت تاثیر قرار می‌دهد که فرمالدهید یکی از آنها است [۲۲ و ۲۳]. در این رابطه گزارشهایی از بی نظمی‌های قاعدگی و اختلالات بارداری نیز در آن دسته از زنان شاغل که در معرض فرمالدهید قرار داشته اند در دست است [۲٤ و ۲۵]. در مردان نیز گزارشهای متناقضی وجود دارد که ممکن است این ماده روند اسپرماتوژنز را تحت تاثیر قرار دهد [۲٦].

در ارتباط با خصوصیات ژنوتوکسیکی فرمالدهید در مطالعات انسانی و حیوانات آزمایشگاهی ثابت شده است که این ترکیب می‌تواند جهش کروموزومی را در سلولهای جنسی و غیر جنسی به دنبال داشته باشد [۲۷ و ۲۸]. در عین حال به اعتبار اینکه گزارشهای مربوط به اثر فرمالدهید روی دستگاه تناسلی و فعالیتهای اسپرم زایی کافی به نظر نمی رسد این پژوهش با هدف مشخص شدن احتمال چنین تاثیری به صورت تجربی و روی موش نژاد Balb/c انجام شد.

مواد و روشها

حیوان آزمایشگاهی و روش تجویز

به اعتبار اینکه لوله‌های اسپرم ساز در بیضهٔ موش حدود ٤۰

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

روز طول می‌کشد تا پس از تولد به تکامل نهایی خود نزدیک شود [۲۹]، در این پژوهش از ۲٤ موش نر ۲۰ روزه نژاد Balb/c استفاده شد که به صورت تصادفی در دو گروه تجربی و کنترل قرار گرفتند. گروه تجربی به مدت ۱۰ روز با حداقل دوز تاثیر گذار (۲۵ mg/kg/. وزن بدن) فرمالدهید Merk محلول در ۱ میلی لیتر آب مقطر مورد تجویز داخل صفاقی قرار گرفتند [۳۰] و مشابه این عمل در گروه کنترل با تزریق حجم محلول مشابهی از آب مقطر انجام گرفت. در پایان دوره ابتدا نمونه‌های هر گروه تحت بهوشی و با بهره گیری از فرمالین ۱۰درصد مورد پرفیوژن بطنی قرار گرفته و بیضه‌های آنان بر داشته شد و به منظور تثبیت نهایی به شیشه‌های کد گذاری شدهٔ محتوی تثبیت کننده (فرمالین ۱۰درصد) انتقال یافت. در مرحلهٔ بعد مطابق روشهای معمول بافت شناسی از نمونه‌های مورد نظر اقدام به تهیهٔ بلوکهای پارافینی شده و از بلوکهای بافتی به دست آمده برشهای سریال در جهت افقی و به ضخامت ۷ میکرون تهیه شد. از مجموع برشهای به دست آمدهٔ مربوط به هر نمونه به طور تصادفی از هر ۵ برش یک برش انتخاب شد و در مرحلهٔ بعد با استفاده از روشهای ایمونوهیستوشیمیایی مبتنی بر به کارگیری آنتی بادی PCNA (proliferation cell nuclear antigen) که از شرکت Invitrage تهیه شده بود مورد مطالعه قرار گرفت.

اندازه گیری عناصر بافتی

برای تعیین دانسیتهٔ حجمی اجزای مورد نظر در ساختمان بافتی بیضهٔ نمونه‌های گروههای مختلف سعی شد تا بر اساس مطالعات مورفومتریک [۳۱] قطر داخلی و خارجی توبولهای بیضه مشخص شود و سلولهای جداری و آزاد نیز با استفاده از روش دایسکتور [۳۲] مورد شمارش قرار گیرند. برای این منظور از برشهای سریال به دست آمده از بیضهٔ نمونه‌های متعلق به هر یک از گروهها انتخاب و با استفاده از میکروسکوپ نوری مورد مطالعه قرار گرفت. روش مطالعه به این ترتیب بود که با قرار دادن یک مربع مدرج میلیمتری در پشت عدسی چشمی میکروسکوپ، واحد مشخصی برای اندازه گیری میدانهای میکروسکوپی طراحی شد. سپس با جابه جا کردن نمونه در زیر میکروسکوپ به فاصلهٔ هر چهار میدان از یک میدان نمونه برداری شد. نتایج به دست آمده از شمارش مقاطع مربوط به هر حیوان بالغ بر ۲۰۰ میدان بود که ضمن تعیین میانگین هر یک از پارامترهای مورد نظر در نهایت میانگین کلی مربوط به هر گروه نیز (مطابق جدول) محاسبه و با همدیگر مقایسه شد. در این بررسی ضمن شمارش سلولهای جنسی و ثبت آنها سعی شد تا آن دسته از سلولهایی که روی حاشیهٔ کادر نمونه برداری واقع شده اند هر دو سلول به جای یک سلول کامل مورد محاسبه قرار گیرد. علاوه بر این ضخامت مقاطع توبولهای بیضه و قطر فضای داخلی آنها نیز به فاصلهٔ هر چهار توبول یک توبول اندازه گیری شد و نتایج به دست آمده از این مطالعه نیز ثبت شد.

روش جمع آوری داده‌ها

پس از تعیین میانگین مجموع اندازه‌های به دست آمده از قطر توبولها و همچنین محاسبهٔ میانگین ضخامت قطر لوله‌های شمارش شده و فضای داخلی آنها، میانگین تعداد سلولهای جنسی حاصل از شمارش میدانهای تصادفی مربوط به هر نمونه نیز تعیین شد و در هر مورد پارامترهای به دست آمده با استفاده از t-test مورد تجزیه و تحلیل و آنالیز آماری قرار گرفت.

یافته‌ها

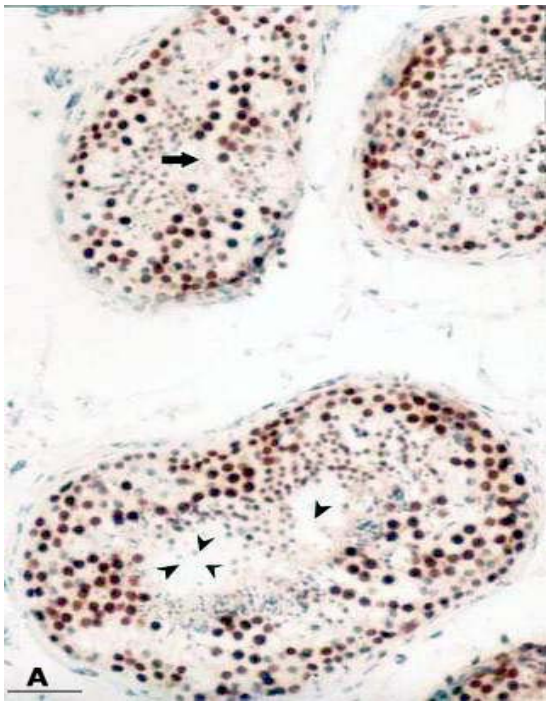
مطالعهٔ ناشی از مقایسهٔ برشهای به دست آمده در نمونه‌های مربوط به گروههای مختلف نشان داد که بخش عمدهٔ لوله‌های اسپرم ساز در گروه تجربی (شکل ۱) با درجاتی از تاخیر

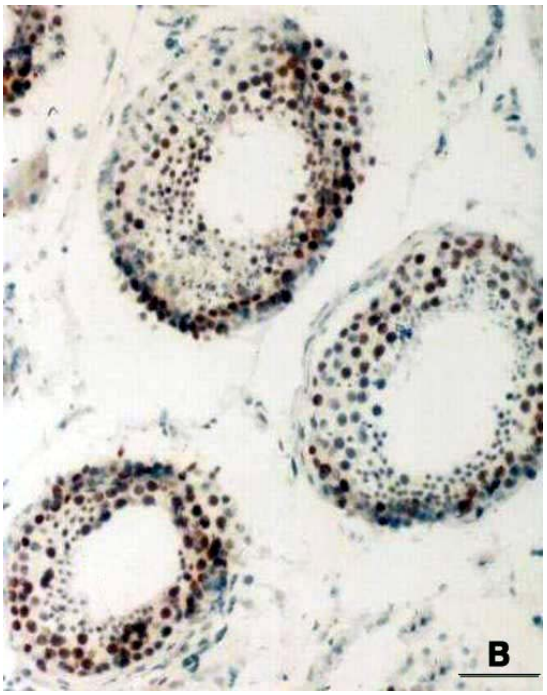
تکاملی مواجه بوده و تنها در شمار معدودی از آنها فرایند کانالیزه شدن آغاز شده است. در این وضعیت اغلب لوله‌ها به شکل توپر و با تراکم سلولی فراوان به چشم می‌خورند و در مشاهدهٔ میکروسکوپیک چنین به نظر می‌رسد که بافت بینابینی لوله‌ها و فضای بین آنها نیز در مقایسه با گروه کنترل توسعهٔ کمتری یافته است. در این حالت اولین شواهد حاصل از آزاد سازی سلولهای جنسی در فضای اندکی که در بعضی از مقاطع لوله‌ها ایجاد شده است به چشم می‌خورد در حالی که این پدیده در گروه کنترل با عینیت بیشتری وجود دارد (شکل ۲). در ارتباط با اندازه گیری قطر خارجی لوله‌های اسپرم ساز در این دو گروه، تفاوت معنی داری در میانگین آنها مشاهده نشد در حالی که این تفاوت در تعیین میانگین ناشی از اندازه گیری قطر داخلی آنها کاملا معنی دار محاسبه شد (جدول ۱). در این وضعیت همان گونه که درشکل ۲ دیده می‌شود در عین اینکه از ضخامت جدار لوله‌ها در گروه کنترل کاسته شده و تعداد لایه‌های سلولی در مقایسه با نمونهٔ مشابه از گروه تجربی کمتر است، وجود سلولهای مشتق شده از لایهٔ ژرمینال با هسته‌های کروی درشت و پررنگ گویای تقسیمات فعال در این نواحی است اما در نمونهٔ تجربی تراکم سلولی جدار لوله‌ها به مراتب بیشتر و هسته‌ها کوچکتر به نظر می‌رسند.

جدول۱. میانگین (±SEM) مربوط به تغییرات قطر لوله‌های اسپرم ساز و سلولهای جنسی در گروههای تجربی و کنترل

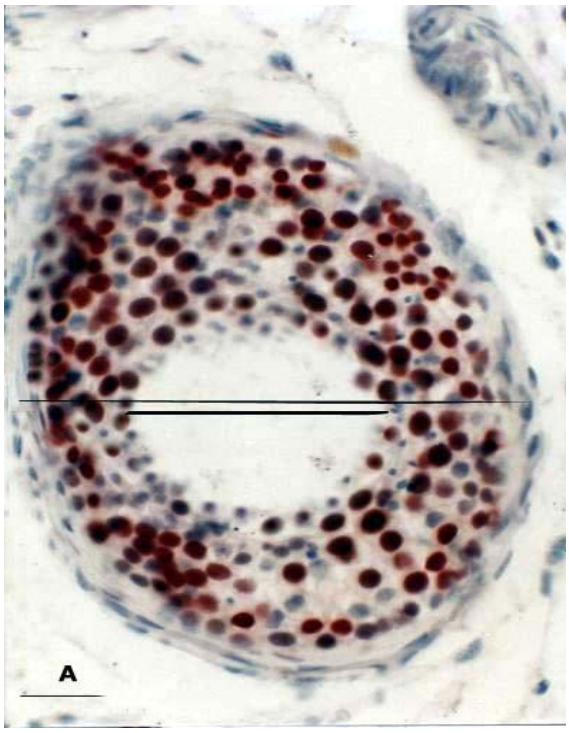
میانگین مربوط به هر گروه	تجربی	کنترل
قطر خارجی توبولها (µm) (p>۰/۰۵)	٦٤/١١±٢/١٢	٧٨/٢٩±١/٧١
قطر داخلی توبولها (p<۰/۰۰۵)	٢٩/٣٧±٣/١٦	٥٥/٣١±١/٤٢
سلولهای جداری (mm3) (p<۰/۰۰۵)	٢٥±٢/٢١	١٣±٢/١٨
سلولهای جنسی بالغ (p<۰/۰۰۵)	١٢١±٩/٤١	٢٥٧±١٤/١١

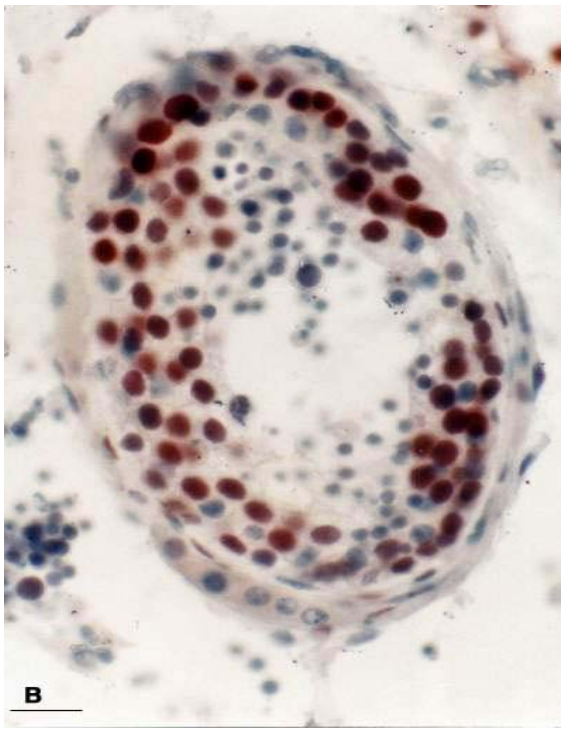
تعداد سلولهای جداری در واحد حجم (mm3) شمارش شده است.





شکل ۱. مقاطع مربوط به توبولهای بیضه در یک نمونه تجربی (شکل A) نشان داده شده است. همان گونه که مشاهده می شود در این نمونه درجاتی از تاخیر تکاملی توبول‌های اسپرم ساز دیده می شود (پیکان دنباله دار) و در بعضی از آنها (پیکانهای دو شاخه) فرایند کانالیزه شدن تازه آغاز شده است. توبولهای مربوط به گروه کنترل (شکل B) را نشان می‌دهد که دارای تکامل طبیعی هستند (۲۰۰میکرون =bar).





شکل ۲. مقطع مربوط به یکی از توبولهای بیضه در یک نمونه تجربی (شکل A) و یک نمونه کنترل (شکل B) که در نمونه تجربی طرز اندازه گیری قطر خارجی و داخلی توبول نیز نشان داه شده است. در نمونه کنترل به سلولهای جنسی بالغ که به رنگ آبی تیره در حاشیه داخلی و فضای توبول قرار دارند توجه شود (٤٠٠=میکرون bar).

بحث

مطالعهٔ ناشی از مقایسهٔ نتایج مربوط به گروههای مختلف نشان دهنده این واقعیت است که بخشی از لوله‌های اسپرم ساز در گروه تجربی هنوز کانالیزه نشده و تنها در شمار معدودی از آنها این فرایند آغاز شده است. در این وضعیت لوله‌ها به شکل توپر و با تراکم سلولی فراوان به چشم می‌خورند و در مشاهدهٔ میکروسکوپیک چنین به نظر می‌رسد که سلولهای بینابینی لوله‌ها نیز در مقایسه با گروه کنترل کمتر تکامل یافته است. در این حالت اولین شواهد حاصل از آزاد سازی سلولهای جنسی در فضای اندکی که در بعضی از مقاطع لوله‌ها ایجاد شده است به چشم می‌خورد در حالی که این پدیده در گروه کنترل با عینیت بیشتری وجود دارد.

در این وضعیت سلولهای جنسی بالغ نیز درکانالهای مربوط به نمونه‌های تجربی نسبت به گروه کنترل به شکل چشمگیری تفاوت نشان می‌دهد زیرا چنین به نظر می‌رسد که سلولهای اسپرماتوسیت با نوعی تاخیر بلوغ و آزاد سازی روبه رو هستند و با فشردگی چند لایه ای نزدیک به کانال میانی در کنار هم انباشته شده اند.

در ارتباط با اندازه گیری قطر خارجی لوله‌های اسپرم ساز در این دو گروه، تفاوت معنی داری در میانگین آنها مشاهده نشد در حالی که این تفاوت در تعیین میانگین ناشی از اندازه گیری قطر داخلی آنها کاملا معنی دار بود.

این نتایج همچنین بیانگر این موضوع است که تراکم لایه‌های سلولی در گروه تجربی نسبت به نمونه‌های مشابه از گروه کنترل کمتر است که می‌تواند دلیلی بر کند بودن فعالیت‌های تقسیم سلولی و تمایز آنها به رده‌های مختلف تلقی شود. در تصاویر به دست آمده وجود سلولهای مشتق شده از لایهٔ ژرمینال با هسته‌های کروی درشت و پررنگ گویای تقسیمات فعال در این نواحی است اما در نمونهٔ تجربی تراکم سلول‌ها کمتر و هسته‌ها کوچکتر به نظر می‌رسند. در این وضعیت

سلولهای جنسی آزاد شده نیز درکانالهای مربوط به نمونه‌های تجربی نسبت به گروه کنترل به شکل چشمگیری تفاوت نشان می‌دهد زیرا چنین به نظر می‌رسد که سلولهای اسپرماتوسیت با نوعی تاخیر بلوغ و آزاد سازی روبه رو هستند. همه این یافته‌ها نشان می‌دهد که تاثیر فرمالدهید بر بلوغ جنسی و پدیده اسپرماتوژنز در موش موضوعی انکار ناپذیر است. آنچه که بیشتر تا کنون در زمینه تایید این نتایج به ثبت رسیده است تحقیقات پراکنده ای است که روی بعضی از حیوانات آزمایشگاهی به صورت تجربی انجام گرفته است [۳۵-۳۳]. آنچه تا کنون در مورد شواهد انسانی مربوط به این ترکیب به ثبت رسیده است، گزارش مربوط به سازمان بهداشت جهانی (WHO) است [۳٦ و ۳۷]. آثار سیتوتوکسیک این ترکیب شیمیایی از راه تاثیر گذاری بر فعالیتهای آنزیمی مربوط به میتوکندریها, لیزوزومها و شبکه‌های آندوپلاسمیک صورت می‌گیرد و از این طریق ژنوم سلولی را تحت تاثیر قرار می‌دهد [٤۲-۳۸]. شواهد حاصل از این گزارشهای بر این موضوع دلالت دارد که با وجود تحقیقات انجام شده در مورد شیمی زیستی ترکیباتی از جملهٔ فرمالدهید و تاثیر آن بر ارگانیزم زنده نیاز به انجام مطالعات گسترده تری در این زمینه وجود. در این مطالعه مشخص شد که فرمالدهید می‌تواند علاوه بر تحت تاثیر قرار دادن قطر لوله‌های سمینیفر و ساختمان جداری آنها به کاهش در روند اسپرماتوژنز منجر شود. اگر چه که در موارد مشابهی تاثیر گذاری بعضی از ترکیبات دارای فرمالدهید بر روند اسپرماتوژنز مورد ارزیابی قرار گرفته و نتایجی از این دست گزارش شده است [٤۱ و ٤۳] اما به ارزیابی مستقیم اثر فرمالدهید کمتر توجه شده است. بنا بر این اگر چه به تاثیر گذاری مستقیم فرمالدهید بر اسپرماتوژنز توجه زیادی نشده است اما شواهد حاصل از تاثیر گذاری این ترکیبات و نتایج حاصل از پژوهش حاضر نشان می‌دهد که با توجه به قدرت نفوذ پذیری فرمالدهید، این ماده می‌تواند اثر انکار ناپذیری بر روند اسپرماتوژنز داشته باشد. به هر حال اگر چه روش تاثیر گذاری این ترکیب مانند بسیاری از ترکیبات دیگر بر پدیده اسپرماتوژنز به خوبی مشخص نیست ولی آنچه به نظر می‌رسد اینکه شاید بتوان گفت آسیب رسیدن به روند اسپرم زایی و تاثیر گذاری فرمالدهید بر ساختار بافتی لوله‌های اسپرم ساز ممکن است بر اساس تغییرات فیزیولوژیک، سیتو توکسیک یا مکانیسمهای ژنتیکی بروز کرده باشد. علاوه بر این آنچه که در رابطه با تاثیر گذاری سایر ترکیبات مشابه به اثبات رسیده است این است که حداقل دو مکانیسم مشخص وجود دارد که می‌تواند از طریق تاثیر گذاری غیر مستقیم باعث ناهنجاری در پدیده اسپرماتوژنز و اختلال در روند این پدیده شود [٤٤]. اول اینکه قرار گرفتن در معرض این ترکیبات، می‌تواند بر فعالیت محور هیپوفیزی- هیپوتاموسی- گنادی تاثیر بگذارد و از این طریق روند طبیعی تولید هورمونهای جنسی را متاثر نماید. دوم اینکه چنین ترکیباتی می‌توانند به تغییر در ترکیب و نوع ساختار مایع انزالی منجر شوند و از این طریق به تغییر در ساختمان لوله‌های اسپرم ساز و اختلال در روند اسپرماتوژنز منجر شوند.

تقدیر و تشکر

این مطالعه در قالب یک طرح پژوهشی به شماره ۸٦۰٤۹ معاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی مشهد و با هزینه این معاونت صورت گرفته که بدین وسیله از این مساعدت تشکر و قدر دانی می شود. نویسندگان مقاله همچنین بر خود واجب می دانند تا از خدمات تکنیکی سرکار خانم فاطمه متجدد تشکر نمایند.

References

1. **Lipczynska-Kochany E, Kochany J.** Humic substances in bioremediation of industrial wastewater - mitigation of inhibition of activated sludge caused by phenol and formaldehyde. J Environ Sci Health A Tox Hazard Subst Environ Eng 2008; 43(6): 619-26.
2. **Eiroa M, Vilar A, Kennes C, Veiga MC.** Formaldehyde biodegradation and its effect on the denitrification process. Environ Technol 2007; 28(9):1027-33.
3. **Gavin JG, Martinez ML, Fernandez-Redondo V, Seoane MJ, Toribio J.** Contact allergic dermatitis from melamine formaldehyde resins in a patient with a negative patch-test reaction to formaldehyde. Dermatitis 2008; 19 (2): 5-6.
4. **Bertrand JP, Simon V, Chau N.** Associations of symptoms related to isocyanate, ureaformol, and formophenolic exposures with respiratory symptoms and lung function in coal miners. Int J Occup Environ Health 2007; 13(2):181-7.
5. **Jacob SE, Steele T.** Avoiding formaldehyde allergic reactions in children. Pediatr Ann 2007; 36(1): 55-6.
6. **Weston WL, Weston JA.** Allergic contact dermatitis in children. Am J Dis Child 1984; 138(10):932-6.
7. **Sugai T, Takagi T, Yamamoto S, Takahashi Y.** Age distribution of the incidence of contact sensitivity to standard allergens. Contact Dermatitis 1979; 5(6):383-8.
8. **Noiesen E, Munk MD, Larsen K, Johansen JD, Agner T.** Difficulties in avoiding exposure to allergens in cosmetics. Contact Dermatitis 2007; 57(2):105-9.
9. **Smith AE.** Formaldehyde (review article). Occup Med 1992; 42(2):83-8.
10. **Paustenbach D, Alarie Y, Kulle T, Schachter N, Smith R, Swenberg J, Witschi H, Horowitz SB.** A recommended occupational exposure limit for formaldehyde based on irritation. J Toxicol Environ Health 1997; 50(3):217-63.
11. **Yang YH, Xi ZG, Chao FH, Yang DF.** Effects of formaldehyde inhalation on lung of rats. Biomed Environ Sci 2005;18(3):164-8
12. **Conolly RB, Kimbell JS, Janszen D, Schlosser PM, Kalisak D, Preston J, et al.** Human respiratory tract cancer risks of inhaled formaldehyde: dose-response predictions derived from biologically-motivated computational modeling of a combined rodent and human dataset. Toxicol Sci 2004; 82(1): 279-96.
13. **Piegari G, Piegari V.** The urinary excretion of the formaldehydogenic steroids in patients with neoplasia of the respiratory or digestive system. 1. Bronchogenic carcinoma. Oncologia 1959; 12(1): 34-44.
14. **Lin Z, Luo W, Li H, Zhang Y.** The effect of endogenous formaldehyde on the rat aorta endothelial cells. Toxicol Lett 2005; 159(2):134-43.
15. **Taylor BK, Peterson MA, Basbaum AI.** Exaggerated cardiovascular and behavioral nociceptive responses to subcutaneous formalin in the spontaneously hypertensive rat. Neurosci Lett 1995; 201(1): 9-12.
16. **Tani T, Horiguchi Y.** Effects of formaldehyde on cardiac function. Jpn J Pharmacol 1990; 52(4):563-72.
17. **Strubelt O, Brasch H, Pentz R, Younes M.** Experimental studies on the acute cardiovascular toxicity of formalin and its antidotal treatment. J Toxicol Clin Toxicol 1990; 28(2): 221-33.
18. **Pitten FA, Kramer A, Herrmann K, Bremer J, Koch S.** Formaldehyde neurotoxicity in animal experiments. Pathol Res Pract 2000; 196(3):193-8.
19. **Sari DK, Kuwahara S, Tsukamoto Y, Hori H, Kunugita N, Arashidani K, et al.** Effect of prolonged exposure to low concentrations of formaldehyde on the corticotropin releasing hormone neurons in the hypothalamus and

adrenocorticotropic hormone cells in the pituitary gland in female mice. Brain Res 2004; 1013(1):107-16.

20. **Karimov KhIa, Dadazhanov ShN, Gil'dieva MS.** Rat reproductive cells as biological indicators of the effect of environmental factors. Morphology 2003; 123(1): 69-71.
21. **Ozen OA, Akpolat N, Songur A, Kus I, Zararsiz I, Ozacmak VH, et al.** Effect of formaldehyde inhalation on Hsp70 in seminiferous tubules of rat testes: an immunohistochemical study. Toxicol Ind Health 2005; 21(10): 249-54.
22. **Wong EY, Ray R, Gao DL, Wernli KJ, Li W, Fitzgibbons ED, et al.** Reproductive history, occupational exposures, and thyroid cancer risk among women textile workers in Shanghai, China. Int Arch Occup Environ Health 2006; 79(3): 251-8.
23. **Solomons K, Cochrane JW.** Formaldehyde toxicity. Part II. Review of acute and chronic effects on health. S Afr Med J 1984; 66(3): 103-6.
24. **Collins JJ, Ness R, Tyl RW, Krivanek N, Esmen NA, Hall TA.** A review of adverse pregnancy outcomes and formaldehyde exposure in human and animal studies. Regul Toxicol Pharmacol 2001; 34(1):17-34.
25. **Heuwieser W, Tenhagen BA, Tischer M, Luhr J, Blum H.** Effect of three programmes for the treatment of endometritis on the reproductive performance of a dairy herd. Vet Rec 2000; 146(12): 338-41.
26. **Babich H.**Reproductive and carcinogenic health risks to hospital personnel from chemical exposure. J Environ Health 1985; 48(2):52-56
27. **Dalls CE, Scott MJ, Ward Jr, Theiss JC.** Cytogenetic analysis of pulmonary lavage and bone marrow cells of rats after repeated formaldehyde inhalation. J Appl Toxicol 1992; 12(3): 199-203.
28. **Odeigah PGC.** Sperm head abnormalities and dominant lethal effects of formaldehyde in albino rats. Mut Res 1997; 389: 141-8.
29. **Ilse-dore A.** Comparison of the duration of spermatogenesis between male rodents and humans. Matur Res 1996; 352: 169-72.
30. **Tang M, Xie Y, Yi Y, Wang W.** Effects of formaldehyde on germ cells of male mice. Wei Sheng Yan Jiu 2003; 32(6):544-8.
31. **Wing T, Christensen K.** Morphometric studies on rat seminiferous tubules. Am J Anat 1982; 165: 13-25.
32. **Behnam–Rasouli M, Nikravesh M R, Mahdavi–Shahri N, Tehranipour M.** Post operative time effects after sciatic nerve crush on the number of alpha motoneurons, using a stereological counting method (Dissector). Ir Biomed J 2000; 4: 41-9.
33. **Kitayeva LV, Kitayeva EM, Pimenova MN.** The cytopathic and cytogenetic sequelae of the effect of formaldehyde on female germ cells and bone marrow cells in rats in chronic inhalational exposure. Tsitologia 1990; 32: 121-6.
34. **Shah BM, Vachharajani KD, Chinoy NJ, Roy ChowdharyA,** Formaldehyde-induced changes in testicular tissues of rats. J Reprod Biol Comp Endocrinol 1987; 7: 42-52.
35. **Majumder PK, Kumar VL.** Inhibitory effects of formaldehyde on the reproductive system of male rats. Indian J Physiol Pharmacol 1995; 39: 80-2.
36. U.S. Environmental Protection Agency. Health and Environmental Effects Profile of Formaldehyde. EPA/600/x-85/362. Environmental Criteria and Assessment Office. Cincinnati, OH. 1988, pp 17-9.
37. World Health Organization. Environmental Health Criteria for Formaldehyde. Vol. 89. World Health Organization, Geneva, Switzerland, 1989, pp 27-9.
38. **Wallace EC.** Mitochondrial DNA sequence variation in human evolution and disease. Proc Natl Acad Scie 1994; 91: 8730-46.
39. **Giles RE, Blanc H, Cann HM, Wallace DC.** Maternal inheritance of human mitochondrial DNA. Proc Natl Acad Sci 1980; 77: 6715-9.
40. **Woodbury MA, Zenz C.** Formaldehyde in the home environment: Prenatal and infant exposures. In: Formaldehyde Toxicity (Gibson JE, ed.)

Hemisphere Publishing Corp: New York, 1983, pp 203-11.

41. **Makinen M, Kalliokoski P, Kangas J.** Assessment of total exposure to phenol-formaldehyde resin glue in plywood manufacturing. Int Arch Occup Environ Health 1999; 72(5): 309-14.
42. **Bosetti C, McLaughlin JK, Tarone RE, Pira E, La Vecchia C.** ormaldehyde and cancer risk: a quantitative review of cohort studies through 2006. Ancology 2008; 19(1): 29-43.
43. **McNary JE, Jackson EM.** Inhalation exposure to formaldehyde and toluene in the same occupational and consumer setting. Inhal Toxicol 2007; 19(6-7): 573-6.
44. **Sinha Hikim AP, Rajavashisth TB, Sinha Hikim I, Lue Y, Bonavera JJ, Leung A.** Significance of apoptosis in the temporal and stage-specific loss of germ cells in the adult rat after gonadotropin deprivation. Biol Reprod 1997; 57: 1193-201.