

AÇÃO DO FORMALDEÍDO NO ESÔFAGO DE RATOS: análise morfológica e morfométrica

Carlos Henrique Przybysz¹
Edson Scolin²
Maria Raquel Marçal Natali³

RESUMO

Existem vários métodos de conservação de peças anatômicas, sendo o formol mais utilizado por ter fácil obtenção, utilização, e preço acessível, mas possuindo algumas desvantagens. Estudos sobre prejuízos causados pelo formol são muitos nas vias respiratórias, sendo escassas sobre efeitos no esôfago, justificando o presente trabalho. Foram utilizados 28 ratos machos da linhagem Wistar expostos ao formol no interior de um laboratório de Anatomia, por oito horas diárias durante 30, 60, 120, 150 e 180 dias, sacrificados ao final de cada período. Foram coletadas amostras do terço inicial do esôfago, fixadas e submetidas a processamento histológico, coradas com H.E. (hematoxilina-eosina), para análise morfológica e morfométrica pelo sistema de captura e análise de Imagens (Image pro-plus). Os dados morfométricos obtidos foram analisados estatisticamente pelo teste de Tukey ($p < 0,005$). Não ocorreram alterações morfológicas do esôfago independente do tempo de exposição, entretanto houve nítida desorganização da queratina nos períodos de maior exposição. Os dados morfométricos indicaram que a espessura epitelial do esôfago foi preservada independente do tempo de exposição quando comparado ao controle. No entanto, redução ($p < 0,05$) na espessura do epitélio é verificada nos animais expostos por 5 meses, comparados a 1 e 4 meses, indicando resposta tecidual com 5 meses de exposição.

Palavras-Chave: Esôfago, Formaldeído, Histologia, Ratos.

ABSTRACT

There are various methods of preservation of anatomical parts, and the formaldehyde used to have more easy to obtain, use, and affordable, but has some disadvantages. Studies on damage caused by formaldehyde are many in the airways, with little effect on the esophagus, giving this work. We used 28 male rats of Wistar strain exposed to formaldehyde in a laboratory of Anatomy, for eight hours daily for 30, 60, 120, 150 and 180 days, sacrificed at the end of each period. We collected samples of the initial third of the esophagus, fixed and subjected to histological processing, stained with HE (hematoxylin-eosin) for morphological analysis and morphometric system for capture and analysis of images (Image Pro-plus). The morphometric data were statistically analyzed by Tukey test ($p < 0,005$).

¹ Aluno da Especialização de Anatomia e Histologia: Métodos de Ensino e Pesquisa da Universidade Estadual de Maringá. Carlos.henrique@fap.com.br

² Professor Mestre em Anatomia Humana da Universidade Estadual de Londrina.

³ Professora Dr^a do Departamento de Ciências Morfofisiológicas da Universidade Estadual de Maringá.

There were no morphological changes of the esophagus regardless of time of exposure, however there was a clear disruption of the keratin in the periods of greatest exposure. The morphometric data showed that the epithelial thickness of the esophagus was preserved regardless of exposure time when compared to control. However reduction ($p < 0.05$) in thickness of the epithelium is seen in animals exposed for 5 months, compared to 1 and 4 months, indicating tissue response at 5 months of exposure.

Keywords: Esophagus, Formaldehyde, Histology, Rat.

INTRODUÇÃO

O formaldeído, também conhecido como formol ou formalina, com formula química igual a CH_2O , é vendido comercialmente em concentrações entre 37 e 50% (FORMALDEHYDE [3], 2008; FORMALDEHYDE [5], 2008). É um gás inflamável, incolor e prontamente polimerizado em temperaturas ambientais. Grande número de produtos são feitos usando o formaldeído como base com baixo custo. Participa da composição de produtos de limpeza, produção de resinas e na composição de cigarros. É solúvel em água, em alcoóis, e em outros solventes polares, mas tem baixo grau de solubilidade em líquidos não polares. Metanol e outras substâncias são normalmente adicionados às soluções como estabilizadores para reduzir a polimerização intrínseca (UNESP, 2003; FORMALDEHYDE [4], 2008;).

A sua utilização em estudos anatômicos é bem conhecida, pois as peças anatômicas necessitam de se encontrar em bom estado de conservação para uma fácil identificação dos elementos constituintes da mesma, e o formaldeído destaca-se como método mais utilizado para tal conservação por possuir preço acessível e fácil obtenção.

É considerado como um potente irritante nasal, citotóxico em doses elevadas, e um produto carcinógeno nasal em ratos expostos às altas concentrações transportadas por via aérea (CANTOX INC, 1988).

O formaldeído é um metabólico intermediário essencial em todas as células. É produzido durante o metabolismo normal da serina, da glicina, da metionina, e da colina e também pela demetilação de compostos com N, S, e os O-methyl (xenobióticos) (FORMALDEHYDE [4], 2008).

Estes fatores são importantes porque as células humanas encontram-se diariamente com formaldeído inalado de gases automotivos, no ar atmosférico e fumaça do cigarro, e podem metabolizá-lo ou defender-se das suas propriedades tóxicas potenciais por mecanismos de defesa naturais (CANTOX INC, 1988).

Na literatura científica, é amplamente discutido o malefício causado em vários órgãos pelo formaldeído, entretanto, outros nos conduzem a assuntos conflitantes ou que necessitam de mais pesquisas para serem esclarecidos. Como exemplo de assuntos conflitantes, podemos citar o trabalho de Coon *et. al* (2008), no qual demonstram que mudanças inflamatórias crônicas se desenvolvem no coração e rins de ratos expostos ao formol; enquanto Heck *et. al* (1985) ressaltam que em animais expostos ao formol é remota a possibilidade de desencadeamento de uma reação de toxicidade em sítios distantes.

Os efeitos adversos provocados pela exposição ao formol são descritos como: irritação da mucosa, ardor, lacrimejamento, bronquite, edema pulmonar, pneumonia, asma e dermatites (FORMALDEHYDE [3], 2008). Afeta a todas as partes do sistema respiratório superior, Woutersen *et. al* (1987); Keller, (1990); Formaldehyde [1], (2008), pulmões, Blair *et. al*, (1990); Collins *et. al*, (1997); rins e coração, Coon *et. al*, (2008).

A exposição ao formaldeído pode ocorrer pela respiração de ar contaminado nos laboratórios de anatomia e patologia, pelo fumo do tabaco, ou o ar do ambiente urbano. Estudos em humanos têm relatado uma associação entre exposição de formaldeído e cancro do pulmão e nasofaringe. Estudos em animais têm reportado um aumento da incidência de cancro nasal nas células epiteliais (FORMALDEHYDE [1], 2008).

Com relação ao trato digestório, é descrito que a ingestão acidental de 30 ml de uma solução de formaldeído 37% pode resultar em morte, e que a toxicidade gastrointestinal após a ingestão é mais grave no estômago e os sintomas incluem náuseas, vômitos e dores abdominais graves. Diversos danos a outros sistemas orgânicos, incluindo o fígado, rim, baço, pâncreas, cérebro e sistema nervoso central pode ocorrer a partir da resposta aguda à ingestão de formaldeído (FORMALDEHYDE [2], 2008).

O esôfago, componente do trato digestório, é reconhecidamente vulnerável à ação tóxica dos componentes do cigarro e entre eles o formol, e a combinação destes componentes causam câncer de esôfago. Segundo Lehrbach *et.*

al (2003), o câncer esofágico pode ser o efeito de diferentes exposições a agentes exógenos, como o tabagismo. Desta forma, a resposta tecidual deste órgão frente à exposição contínua desta substância é de extremo interesse e justifica a realização do presente estudo, cujo objetivo foi avaliar a ocorrência de efeitos do formaldeído sobre a morfologia do esôfago de ratos Wistar após exposição por períodos de 30, 60, 120, 150 e 180 dias e avaliar morfometricamente a espessura epitelial da mucosa esofagiana.

MATERIAIS E MÉTODOS

Animais

Foram utilizados 28 ratos *Norvegivus* da linhagem *Wistar*, adultos, machos com peso entre 250 e 300g, distribuídos em sete grupos, 4 ratos/grupo distribuídos da seguinte forma :

Grupo Controle (sem exposição ao formol), sendo mantidos no biotério da Faculdade de Apucarana (FAP), em caixas de polipropileno sob fotoperíodo (ciclo claro/escuro) de 12/12 horas (ciclo claro iniciando às 6 horas e ciclo escuro às 18 horas) controlado por timer Brasfort® e com temperatura (20 a 24°C) também controlada, sendo alimentados com ração padronizada para roedores (PRIMOR) e água *ad libitum*.

Grupo Exposto aos vapores do formol nas dependências do laboratório de Anatomia da Faculdade de Apucarana (FAP) e níveis de formol em 3,63 ppm, medidos pela técnica de gravimetria NIOSH 2016 (COON *et. al*, 2008).

Os animais foram expostos durante 8 horas/dia e 05 dias/semana (excluindo-se os sábados e domingos), por períodos de 30, 60, 90, 120, 150 e 180 dias, de modo a simular a condição do técnico em Anatomia em seu laboratório. A alimentação também era constituída por ração padronizada para roedores (PRIMOR) e água *ad libitum*

Coleta e processamento histológico

Ao final do tempo de exposição correspondente, os animais foram anestesiados com éter e após laparotomia, amostras da porção inicial do esôfago,

foram fixadas em Metacan, desidratadas em série de concentrações crescentes de álcool, diafanizadas em xilol e incluídas em parafina para realização de cortes histológicos semi-seriados de 6 µm de espessura corados com Hematoxilina e Eosina (H.E).

Análise morfológica e morfométrica

A análise morfológica da parede do esôfago foi realizada com auxílio de microscópio Binocular EK 2000, no Laboratório de Histologia da Faculdade de Apucarana (FAP). Para análise morfométrica, mensurou-se a espessura do epitélio do esôfago em 10 pontos aleatórios/corte a partir de imagens capturadas e analisadas em sistema de análise de imagens computadorizada (Image-Pro Plus 4.5 – Media Cybernetics®) do departamento de Ciências Morfofisiológicas da Universidade Estadual de Maringá.

Análise Estatística

A avaliação estatística dos resultados foi realizada pelo teste “t” de Tukey prefixando-se o nível de significância em 95% ($p < 0,05$) através do programa Prism, v.3.0 (Graph Pad Software, versão 3.0, São Diego, CA, USA).

RESULTADOS

Não houve diferença na organização histológica das túnicas que compõem a parede da porção inicial do esôfago dos ratos Wistar quando se comparou o grupo controle (sem exposição ao formol) e os grupos expostos ao formol independente do período de exposição (Fig1).



Fig 1. Corte transversal do esôfago de ratos Wistar, do grupo F. 4 meses de exposição, indicando as tûnicas mucosa (m), submucosa (s), muscular (mu) e serosa (seta). H.E. Imagem capturada em 20x.

Foram observadas as quatro tûnicas típicas: mucosa, submucosa, muscular e serosa, formando pregas que resultaram em uma luz colapsada.

A tûnica mucosa apresentou-se composta de epitélio estratificado pavimentoso queratinizado, com camada germinativa distinta. Abaixo do epitélio, presença de lâmina própria constituída por tecido conjuntivo pouco acidófilo indicando uma característica de moderadamente denso. Presença de núcleos de fibroblastos e células do sistema imune (linfócitos) e vasos sanguíneos. Uma muscular da mucosa bem definida delimita a mucosa da próxima tûnica, a submucosa, a qual apresentou feixes de fibras colágenas, vasos sanguíneos, com ausência de glândulas esofagianas.

A tûnica muscular externa apresentou-se constituída por fibras musculares estriadas organizadas em duas camadas: circular interna e longitudinal externa. Entre as camadas foi possível observar neurônios mioentéricos formando pequenos gânglios. A última tûnica, denominada de serosa, apresentou-se constituída por reduzido tecido conjuntivo moderadamente denso, revestido por epitélio simples pavimentoso (mesotélio).

Apesar da preservação da organização descrita acima, era nítida a desorganização da camada queratinizada nos maiores tempos de exposição (Fig 2A e 2B).

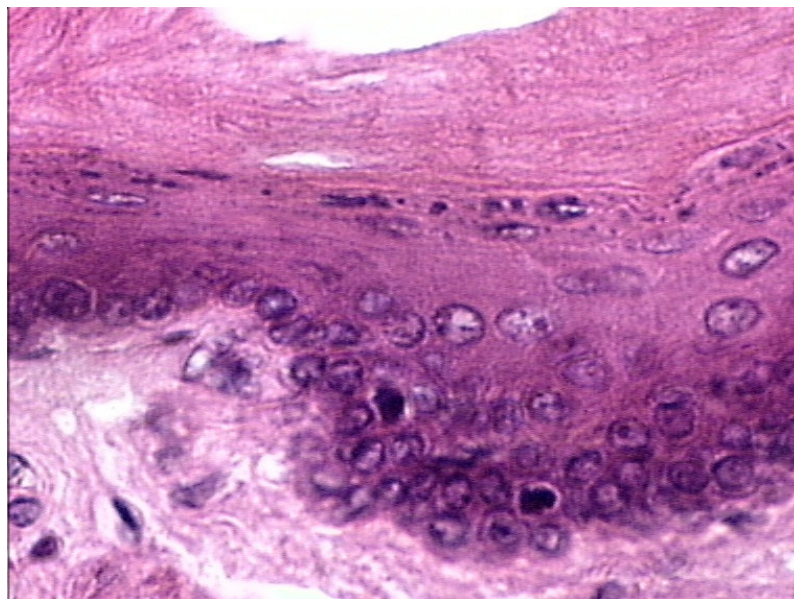


Fig.2A. Corte transversal do esôfago de ratos Wistar, do grupo controle onde se evidencia a camada queratinizada organizada. H.E. Imagem capturada em 40x.

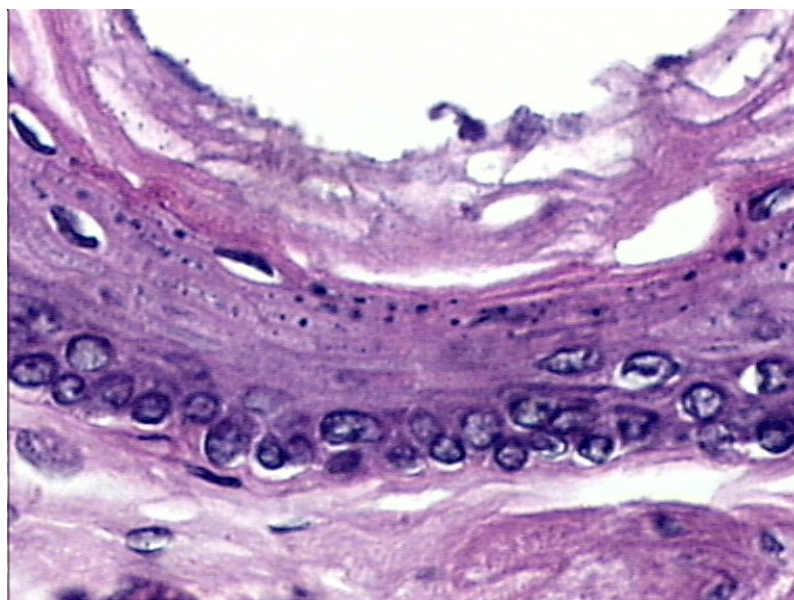


Fig.2B. Corte transversal do esôfago de ratos Wistar, expostos ao formol durante 180 dias, onde se

evidencia a camada queratinizada desorganizada.
H.E. Imagem capturada em 40x.

A tabela 1 apresenta os dados de espessura epitelial entre os diferentes grupos e indicou que esta espessura é preservada independente do tempo de exposição quando comparado ao controle. No entanto, diferença estatística é verificada nos animais de 5 meses de exposição ao formol, quando comparados a 1 e 4 meses de exposição.

Tab.1 Espessura (μm) do epitélio esofágico de ratos wistar submetidos a diferentes tempos de exposição ao formol (E) e sem exposição (C). Os dados são expressos como média \pm desvio-padrão.

GRUPO	ESPESSURA
CONTROLE (SEM EXPOSIÇÃO)	47.16 \pm 14.10
E-30 DIAS	54.31 \pm 21.83*
E-60 DIAS	50.52 \pm 15.83
E-90 DIAS	46.03 \pm 12.30
E-120 DIAS	56.41 \pm 16.27*
E-150 DIAS	42.87 \pm 12.63*
E-180 DIAS	52.09 \pm 15.73

(*) indica diferença significativa entre os tempos de 30 d, 120 e 150d. Teste T de Tukey (P<0,05)

DISCUSSÃO

A porção cervical do esôfago dos ratos Wistar apresentou similaridades com o da organização histológica clássica para mamíferos (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2008; ROSS; PAWLINA, 2008) e para roedores (BANKS, 1991), no que se refere à presença das quatro túnicas distintas, mucosa, submucosa, muscular e serosa.

Destaca-se, entretanto, que ao contrário dos autores acima citados, duas características diferem das descrições clássicas: não foram observadas as presenças das glândulas produtoras de muco na lâmina própria da túnica mucosa ou

submucosa. Esta observação está de acordo com o descrito por Koak; Winslet (2002), ao afirmarem que ratos não possuem qualquer tipo de glândula no esôfago. Outra diferença se refere à constituição histológica da última túnica, a qual foi classificada neste estudo como serosa, e não como adventícia, diferindo do descrito por Banks (1991), Bacha; Bacha (2003), Junqueira; Carneiro (2008), Ross; Pawlina (2008).

Quando comparamos o esôfago dos animais submetidos a diferentes tempos de exposição ao formol, verificamos que houve a manutenção das características histológicas entre os grupos, apesar de verificarmos uma nítida desorganização da camada queratinizada nos maiores tempos de exposição (5 e 6 meses).

Este resultado aliado à análise morfométrica que indicou um diferença significativa na espessura do epitélio no tempo de 5 meses quando comparado a animais com 1 a 4 meses de exposição poderia ser indicativo de variação na resposta tecidual, ressalte-se porém que com 6 meses esta diferença não foi significativa.

Lopes *et al* (1987) descrevem que quando as células são submetidas a estímulos acima dos níveis aos quais estão adaptadas, podem apresentar dois mecanismos básicos de resposta, aumento das funções pré-existentes específicas e inespecíficas (hipertrofia) e aumento da atividade proliferativa com aumento do seu número conservando a diferenciação (hiperplasia) ou com diferenciação alterada (metaplasia, displasia, neoplasia).

Menor espessura epitelial e maior desorganização de queratina foi observada no esôfago dos animais com 5 meses, se considerarmos este tempo como o período crítico, não poderíamos inferir que algum processo carcinogênico estaria se desenvolvendo, visto que, segundo Lehrbach *et al* (2003), um indicador precoce deste processo é um aumento da proliferação das células epiteliais esofágicas morfológicamente basocelular incluindo hiperplasia, displasia, carcinoma *in situ* e carcinoma avançado esofágico.

Nossos resultados indicam que as exposições dos ratos Wistar aos vapores do formaldeído mantiveram a organização tecidual do esôfago em níveis toleráveis, alguns relatos da literatura poderiam justificar tal resposta. Patterson *et al* (1986) verificaram retenção do gás formaldeído na passagem nasal em ratos F-344 machos expostos ao formaldeído- C¹⁴ a 2.4-6.0 mg/m³ por 30 min demonstrou que

mais de 93% ficou retido na cavidade nasal, sem levar em consideração a concentração do formaldeído do ar.

Resultados baseados na inalação de formaldeído a uma taxa constante de fluxo volumétrico (onde o trabalhador se encontra em repouso) obtiveram uma taxa de absorção pelo tecido nasal de cerca de 90%, onde se conclui que a contribuição nasal a sobrecarga sistêmica da exposição ao formaldeído é insignificante (CASANOVA *et al*, 1988; HECK *et al*, 1985).

Resultados discordantes foram obtidos por Heck *et. al* (1982), em ratos expostos via inalação de formaldeído- C^{14} a $18\text{mg}/\text{m}^3$ (15ppm) por 6 h, em que observaram que a radioatividade distribuiu-se extensivamente a outros tecidos, sendo que as concentrações mais elevadas ocorreram no esôfago seguido pelo rim, pelo fígado, pelo intestino, e pelo pulmão, indicando que formaldeído- C^{14} absorvidos e seus metabólitos eram rapidamente removidos pelo suprimento sangüíneo.

O aumento da concentração de formaldeído no sangue não foi detectado em ratos ou seres humanos expostos ao formaldeído através de inalação, tendo em vista o metabolismo rápido. Os metabólicos do formaldeído são incorporados a macromoléculas através da via do carbono um ou eliminados no ar expirado (CO_2) e na urina (FORMALDEHYDE [4], 2008).

Segundo Heck *et. al* (1982) o formaldeído inalado é absorvido primeiramente através do trato respiratório superior. Após a inalação do formaldeído- C^{14} , a mucosa nasal anterior reteve concentrações muito mais elevadas de radioatividade do que outros órgãos, incluindo a traquéia, o pulmão, o fígado, o rim, o intestino, o baço, o coração, o cérebro, e os testículos.

Segundo AIHA (1983) e Rusch *et al* (1983), a inalação de formaldeído em concentrações que variam entre 1,0 e 12,7ppm não produzem efeitos sobre ratos, considerando que em nosso estudo a concentração utilizada foi de 3,63 ppm, a ausência de alterações mais evidentes poderia ser justificada.

Numerosas investigações têm demonstrado que não existem lesões histológicas ou ultra-estruturais detectáveis em mucosas nasais de rato induzidas por inalação de formaldeído com concentração menor que aproximadamente 2 ppm (KERNS *et al*, 1983; WOUTERSEN *et al*, 1987; FORMALDEHYDE [6], 1995), como também nenhum aumento na replicação celular ocorreu nesta mesma concentração (CASANOVA *et al*, 1994; MONTICELLO *et al*, 1991).

Para Wilmer (1987); a absorção do formaldeído a concentrações entre 05 e 10ppm causa de leve a forte aumento na proliferação do epitélio nasal de ratos, enquanto Rush *et al* (1983) em estudos com ratos, macacos e hamsters demonstrou hiperplasia de células basais na região média das conchas nasais de ratos.

Respostas tóxicas induzidas pelo formaldeído no sistema respiratório em concentrações altas, via inalação, incluem ulceração, hiperplasia, e metaplasia escamosa a qual poderia evoluir para subsequente desenvolvimento do câncer. (FORMALDEHYDE [6], 1995; CASANOVA E HECK, 2004). A metaplasia do epitélio olfatório e laríngeo de ratos foi demonstrada em concentração de 20ppm por Woutersen *et al* (1987).

Com relação à traquéia e aos brônquios, Keller (1990) destaca que o formaldeído atua fracamente sobre o epitélio de revestimento da traquéia. Metaplasia escamosa e hiperplasia do epitélio traqueal, além de fibrose da submucosa e inflamação em grupos 20 e 40 ppm foram observadas em camundongos (MARONPOT, 1986).

Com relação ao pulmão, desenvolvimento de câncer nos pulmões de ratos foi descrito por Blair *et al* (1990); Collins *et al* (1997), divergindo de Coon *et al* (2008), os quais demonstraram que ratos e macacos expostos a altas concentrações de formaldeído não apresentaram sinais de toxicidade, porém, todos apresentaram inflamação intersticial no pulmão.

Outros órgãos como o fígado (DUBREUIL *et al*,1976; RUSCH *et al*,1983), rim (KELLER, 1990, COON *et. al*, 2008), sangue (HECK *et. al*, 1985; HAUPTMANN *et al*, 2003), medula óssea (CASANOVA E HECK, 2004) foram amplamente estudados. Todos os autores apontam que o tipo de efeito está diretamente correlacionado à concentração do formol e não ao tempo de exposição.

Segundo Heck *et al* (1985), estudos em humanos demonstraram que as concentrações médias de formaldeído no sangue antes e depois da exposição por inalação eram similares àqueles encontradas nos ratos.

Desta forma, concluímos que a parede esofagiana de ratos Wistar submetidos a diferentes tempos de exposição ao formaldeído na concentração de 3,63ppm não sofreu um efeito na organização histológica dos órgãos, apesar da desorganização da camada queratinizada e variações significativas na espessura epitelial de ratos com 5 meses, o que justifica a necessidade de se explorar a ação deste agente sobre o esôfago.

Referências

AIHA. **Industrial hygiene news report Chicago**, Illinois, American Industrial Hygiene Association. 1983.

BACHA, W.J.; BACHA, L.M. **Atlas Colorido de Histologia Veterinária** 2 ed., São Paulo, Roca, 2003.

BANKS, W.J. **Histologia Veterinária Aplicada**. 2 ed. São Paulo, Manole, 1991.

BLAIR, A.; STEWART, P.A.; AND HOOVER, R. N. Mortality from lung cancer among workers employed in formaldehyde industries. **Am. J. Ind.** 17, p. 683-699, 1990.

CANTOX, I. N. C. Biological risk assessment of the potencial carcinogenesis from exposure to airborne formaldehyde. **CanTox Inc.**, Ontario, Canadá, 1988.

CASANOVA, M.; COLE, P.; COLLINS, J.J.; CONOLLY, R.; DENZEL, E.; HECK, H.; LEONARD, R.; LEWIS, R.; MARSH, G.M.; OTT, M.G., SORAHAN, T., 2004. **Letter to the Editor. J. Natl. Cancer Inst.** (in press).

CASANOVA, M.; HECK, H.D.^a; EVERITY, J.I.; HARRINGTON JR.; W.W.; POPP, J.A. Formaldehyde concentrations in the blood of Rhesus monkeys after inhalation exposure. **Food Chem. Toxicol.** 26, 1988, pp. 715-716.

CASANOVA, M.; MORGAN, K.T.; GROSS, E.A; MOSS, R.; HECK, H.D.A. DNA-protein cross-links and cell replication at specific sites in the nose of f 344 rats exposed subchronically to formaldehyde. **Fundam. Appl. Toxicol.** 23, 1994, pp 525-536.

COLLINS, J.J.; ACQUAVELLA, J. F.; ESMEN, N. A. An updated meta-analysis of formaldehyde exposure and upper respiratory cancers. **J. Occup. Environ. Med.**, 39, p. 639-651, 1997.

COON, R. A. *et. al.* **J. Toxicol APPL Pharmacol**, n.16, p.646-655, 1970.

Formaldehído (HCHO): Disponível em: <NIOSH. <http://www.cdc.gov/NIOSH/>>. Acesso em 20 jun, 2008.

DUBREUIL, A.; BOULEY, G.; GODIN, J.; & BOUDENE, C.J. Inhalation en continu de faibles doses de formaldehyde. Etude expérimentale chez le rat. **Eur. Toxicol.**, 1976, p.9:245-250.

FORMALDEHYDE[1]. **Hazard**. Disponível em: <www.epa.gov/ttn/atw/hlthef/formalde.html>. Acesso em: 10 abril, 2008.

FORMALDEHYDE[2]. **Medical surveillance**. Disponível em: www.osha.gov/pls/oshaweb/owadisp.show_document?p_table=STANDARDS&p_id=10078. Acesso em: 10 abril 2008.

FORMALDEHYDE[3]: Medical Management Guidelines

for Formaldehyde: Disponível em: <<http://www.atsdr.cdc.gov/mhmi/mmg111.html>>
Acesso em 15 maio, 2008.

FORMALDEHYDE[4]: ENVIRONMENTAL HEALTH CRITERIA FORMALDEHYDE.

Disponível em: <<http://www.inchem.org/documents/ehc/ehc/ehc89.htm>.
SectionNumber:6.1> 1989. Acesso em 20 maio, 2008.

FORMALDEHYDE [5]: NIOSH. Disponível em: <<http://www.cdc.gov/NIOSH/>>.
Acesso em 20 junho, 2008.

FORMALDEHYDE [6]. IARC international Agency for Research on Cancer.
Formaldehyde. In: IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to
Humans, vol.62, Wood Dust and Formaldehyde, Lyon, 1995, pp. 217-362.

HAUPTMANN, M.; LUBIN, J.H.; STEWART, P.A.; HAYES, R.B.; BLAIR, A.; 2003.
Mortality from lymphohematopoietic malignancies among workers in formaldehyde
industries. **J. Natl. cancer Inst.**, 2003, pp. 95, 1615-1623.

HECK, H. D'A.; E.L WHITE AND M. CASANOVA-SCHIMITZ: Determination of
formaldehyde in Biological Tissues by Gas Chromatography/Mass Spectrometry.
Biomed. Mass Spectrom, 1982, pp. 9:347-353.

HECK. H. D. A. et al. Formaldehyde (CH₂O) concentrations in the blood of humans
and fischer- 344 rats exposed to CH₂O under controlled conditions. **Am. Ind. Hyg.
Assoc. J.**, p.46: 1-3, 1985.

JUNQUEIRA, L.C.; CARNEIRO, J.C. **Histologia Básica** 11 ed. Rio de Janeiro,
Guanabara Koogan, 2008

KELLER, D. A. et al. Histochemical localization of formaldehyde dehydrogenase an
the rat. **Toxicol. Appl. Pharmacol**, p. 106, 311-326, 1990.

KERNS, W.D.; PAVKOV, K.L.; DONOFRIO, D.J.; GRALLA, E.J.; & SWENBERG,
J.A. Carcinogenicity of formaldehyde in rats and mice after long-term inhalation
exposure. **Cancer Res.**, 1983, pp. 43: 4382-4392.

KOAK, Y.; WINSLET, M. Changing role of in vivo models in columnar-lined lower
esophagus. **Diseases of the Esophagus**, v. 15, p. 271–277, 2002.

LEHRBACH, D. M.; NITA, M. E.; CECCONELLO, I. Clinical Genomics of
Esophageal Cancer Group. Aspectos moleculares da carcinogênese do carcinoma
epidermóide do esôfago. **Arq. Gastroenterol**, São Paulo, v.40, n.4, out./dez. 2003.

LOPES, E.R.; CHAPADEIRO, E.; RASO, P.; TAFURI, W.L. **Bogliolo Patologia** 4 ed.
Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 1987.

MARONPOT RR, MILLER RA, CLARKE WJ, WESTERBERG RB, DECKER JR,
MOSS OR. Toxicity of formaldehyde vapor in B6C3F1 mice exposed for 13 weeks.
Toxicology. 1986 Nov;41(3):253-66.

MONTICELLO, T.M.; MILLER, F. AND MORGAN, K. Regional increases in rat nasal epithelial cell proliferation following acute and subchronic inhalation of formaldehyde. **Toxicology and Applied Pharmacology** 111: 409-431, 1991. ed21

PATERSON, D. L.; GROSS, E. A.; BOGDANFFY, M. S.; MORGAN, K. T. Retention of formaldehyde gas by the nasal passages of F-344 rats. **Toxicologist** 6, 1986, p. 55.

ROSS, M.D.; PAWLINA, W. **Histologia-Texto e Atlas em Correlação com Biologia Celular e Molecular**. 5 ed. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 2008

RUSCH, G.M.; CLARY, J.J.; RINEART, W.E.; BOLTE, H.F. A 26-week inhalation toxicity with formaldehyde in the monkey, rat, and hamster. **Toxicol. Appl. Pharmacol.**, 1983, p.68: 329-343.

UNESP - Universidade Estadual Paulista, ano 1, n.2, São José do Rio Preto (SP), out. 2003.

Wilmer, J. W. G. M.; Woutersen, R.A.; Appelman, W.R.; Leeman, W.R. and Feron, V.J. Subacute (4-week) inhalation toxicity study of formaldehyde in male rats: 8-hours intermittent versus 8-hours continuous exposures. **Journal of applied toxicology** 7(1), 15-16, 1987 ed22

WOUTERSEN, R. A. et al. Subchronic (13-week) inhalation toxicity study of formaldehyde in rats. **J. Appl. Toxicol.**, p. 7: 43-49, 1987.