



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO**

FACULTAD DE CIENCIAS

**DETERMINACION DEL EFECTO CITOGENETICO
DE ANESTESICOS VOLATILES EN PERSONAS
OCUPACIONALMENTE EXPUESTAS**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

B I O L O G O

P R E S E N T A :

MARTHA ERIKA MAGAÑA CURIEL

DIRECTOR DE TESIS: SANDRA LUZ GOMEZ ARROYO

MEXICO, D. F.

**RECEBIDA EN LA SECRETARIA DE EDUCACION PUBLICA
11/18**

1997

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**





Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas

Tesis Digitales

Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©

PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

M. en C. Virginia Abrín Basile
Jefe de la División de Estudios Profesionales de la
Facultad de Ciencias
Presente

Comunicamos a usted que hemos revisado el trabajo de Tesis: DETERMINACION DEL
EFECTO CITOGENETICO DE ANESTESICOS VOLATILES EN PERSONAS OCUPA-
CIONALMENTE EXPUESTAS

realizado por MARTHA ERIKA MAGAÑA CURIEL

con número de cuenta 8939126-6 , pasante de la carrera de BIOLOGIA

Dicho trabajo cuenta con nuestro voto aprobatorio.

Atentamente

Director de Tesis
Propietario DRA. SANDRA LUZ GOMEZ ARROYO

Propietario DR. RAFAEL VILLALOBOS METRINI

Propietario DR. JOSE MANUEL VAZQUEZ GALVAN

Suplente M. en C. MARIA ELENA CALDERON SEGURA

Suplente BIOL. MIGUEL ANGEL MENESES PEREZ

Sandra Gómez Arroyo
Rafael Villalobos
Jose Manuel Vazquez Galvan
FACULTAD DE CIENCIAS
U.N.A.M.

Miguel Angel Meneses Perez
Consejo Interdisciplinario de Biología

M. en C. Alejandro Martínez
DEPARTAMENTO
DE BIOLOGIA



ESTA TESIS FUE ELABORADA EN EL
LABORATORIO DE CITOGENETICA
AMBIENTAL, DEL CENTRO DE CIENCIAS
DE LA ATMOSFERA, DE LA UNIVER-
SIDAD NACIONAL AUTONOMA DE
MEXICO, BAJO LA DIRECCION DE LA
DRA. SANDRA GOMEZ ARROYO Y CON
EL APOYO DEL PROGRAMA DE BECAS
PARA TESIS DE LICENCIATURA EN
PROYECTOS DE INVESTIGACION.

*"El estudio de la ciencia y de la tecnología tienen
concepción al servicio para construir la VIDA, por
ello los adeptos de la ciencia debemos aplicarnos con
amor, dedicación, disciplina y con un sentido de
responsabilidad para luchar contra todo abuso de
tecnología; promoviendo así el verdadero avance y el
desarrollo de nuestro mundo."*

Martha Lucía Magaña Cortés.

*Mi vida estuvo profundamente a cargo Mónica
Casta de Salazar, por darme la oportunidad de
haber adquirido los conocimientos de los cuales
ahora disfruto y empleo, así como de convivir
con sus profesores y alumnos, de quienes
aprendí mucho, además por haberme apoyado
mediante Fundación WMA a través del
Programa de Beca para Tesis de Licenciatura
en Psicología de Investigación.*

Agradecer especialmente

A mi director de tesis:

Dra. Sandra Hines Arcega por el tiempo, paciencia y dedicación que constantemente me brindó, además de sus siempre llenas actividades académicas, lo cual fue muy importante para poder llevar a cabo este trabajo de tesis.

A mis asesores:

Dr. Rafael Villalobos Patrón, Dr. José Manuel Viquez Galdo, M. en C. María Elena Calderón López y Biol. Miguel Ángel Mancera Pineda por ese tiempo que desinteresadamente asignaron a la realización de este trabajo, así como por sus constantes siempre valiosas para poder superar una de las imperfecciones antes mencionadas.

Al Hospital General de Zona N°1

San Ángel del TMS:

Por las facilidades brindadas y la colaboración de todos los colaboradores para obtener los materiales y de esa forma poder realizar este trabajo de tesis.

A mi esposa:

Lic. Karla María Lovatque Rivero por toda la paciencia y serenidad que siempre tuvo ante mis momentos frenéticos de arduos y preocupantes que acompañaron la realización de este trabajo, además de todas las actividades y desahogos necesarios para poder acudir al hospital y obtener los materiales.

A mi madre:

Mra. de Jesús Corral Ramírez por todos los cuidados y atenciones de una buena madre y por ese gran ejemplo de aguantar y salir victoriosa ante las adversidades.

A mi padre:

Fuiste Constante Mapiña de Ando por su presentimiento permanente de que su familia nada en la casa y que siempre fuera una hija de la cual se pudiera acompañar.

A todos mi familia:

Por su apoyo y aliento para seguir adelante y superar todos los obstáculos.

Dra. Guadalupe Martínez

Por las facilidades brindadas para mejorar la presentación del trabajo.

A mis buenos compañeros de aulas:

Me gustaría que experimenten lo mismo que los quiero y recuerdo, ya que con algunos hice muy buenos momentos, con otros hice a cada actividades con ganas muy bien realizadas, con otros los dos cosas, y aunque lo hice en grande en fondo de los momentos a German Juárez, Sandra Otero, Miguel A. Sopena, Edil. Norberto Pineda, Edil. Tulliana Pineda, Edil. Mónica Mapiña.

A mis compañeros de laboratorio:

Por haberlos en amistad y apoyarnos cada vez que fue necesario, pero especialmente a Edil. Sara Maldonado por haberme enseñado la técnica de PCR.

Esta tesis la dedico a todos ellos con el firme propósito de no fallarlos.

INDICE

RESUMEN.....	1
1.INTRODUCCION.....	2
1.1 Propiedades físicas y químicas.....	3
1.2 Metabolismo y toxicidad aguda.....	4
1.3 Toxicidad.....	4
1.4 Carcinogenicidad.....	7
1.5 Teratogenicidad.....	9
1.6 Efectos celulares.....	9
1.7 Mutagenicidad.....	11
1.7.1 Triclorostileno.....	11
1.7.2 Fluorano.....	13
1.7.3 Otros análogos.....	14
1.7.4 Efectos del óxido nítrico en plantas.....	16
1.8 Sistemas de prueba.....	17
1.8.1 Intercambio de cromátidas hermanas.....	17
1.8.2 Clásica de proliferación de linfocitos.....	21
1.8.3 Micronúcleos.....	21
2. MATERIALES Y METODOS.....	26
2.1 Toma de muestra.....	26
2.1.1 Intercambio de cromátidas hermanas.....	26
2.1.2 Micronúcleos en mucosa oral.....	27
2.1.3 Micronúcleos en epitelio urinario.....	27
2.2 Tratamiento de las muestras.....	27
2.2.1 Intercambio de cromátidas hermanas.....	27
2.2.1.1 Cultivo de linfocitos.....	27
2.2.1.2 Coscha de linfocitos.....	28
2.2.1.3 Preparación de laminillas.....	28
2.2.1.4 Tinción diferencial de cromátidas hermanas.....	28
2.2.1.5 Observación microscópica.....	28
2.2.2 Clásica de proliferación de linfocitos.....	29
2.2.2.1 Índice de replicación.....	29
2.2.2.2 Índice mitótico.....	29
2.2.3 Micronúcleos epitelio urinario.....	30
2.2.3.1 Obtención de las células de descamación.....	30
2.2.3.2 Preparación de laminillas.....	30
2.2.3.3 Tinción.....	30
2.2.3.4 Examen microscópico.....	31
2.3 Análisis estadístico.....	31

3 RESULTADOS	32
3.1 Intercambio de cromátidas hermanas.....	32
3.2 Cinética de proliferación de linfocitos.....	32
3.3 Micronúcleos en células de descamación de mucosa oral.....	33
3.4 Micronúcleos en células de exfoliación del epitelio urinario.....	33
4. DISCUSION	34
4.1 Intercambio de cromátidas hermanas.....	34
4.2 Cinética de proliferación de linfocitos.....	38
4.3 Micronúcleos.....	39
5. CONCLUSIONES	42
6. TABLAS	44
7. FIGURAS	56
8. ANEXO	60
REFERENCIAS	63

RESUMEN

Los anestésicos volátiles han causado controversia debido a su posible potencial mutagénico en personas ocupacionalmente expuestas, por ello es de suma importancia realizar estudios que valoren si en realidad existe tal efecto y de esta manera tomar las medidas necesarias para su protección. En el presente trabajo se evaluó la actividad citogenética de varios anestésicos (halotano, isoflorano y enflorano) en personal de quirófano mediante las pruebas de intercambio de cromátidas hermanas (ICH) en linfocitos de sangre periférica y de micronúcleos (MN) en células de descamación de la mucosa oral y del epitelio urinario, en 42 personas expuestas que trabajan en el cuarto de operaciones del Hospital General de la Zona No. 8 San Ángel del IMSS, siendo 15 hombres y 27 mujeres, con promedio de edad de 35.85 años, antigüedad 9.9 años, laboran 7.7 horas al día y 17 considerados testigos que llevan a cabo su trabajo en el mismo hospital pero en otras áreas, de ellos uno es hombre y 16 son mujeres con una media de edad de 37.85 años, 13.82 años de antigüedad, laboran 7.91 horas promedio al día. No se hallaron diferencias significativas entre los grupos testigo y expuesto en ICH, índice de replicación (IR), índice mitótico (IM), MN y anomalías nucleares en la mucosa oral y MN en orina. Sin embargo, al analizar las anomalías nucleares en las células de descamación de la orina se encontró que la condensación cromatinica, la pycnosis, la cariolisis y la cariorrexis fueron significativamente diferentes de los testigos, lo que sugiere que en el epitelio urinario de los individuos expuestos aumenta la necrosis. El hecho de que el halotano, el isoflorano y el enflorano no causaron daño en la mucosa oral, pero si en las células de descamación del epitelio urinario sugiere que el agente agresor es un metabolito de los anestésicos, ya que en el primer caso el anestésico aún no se ha metabolizado mientras que en el segundo si ha ocurrido.

1. INTRODUCCION

La acreditación del uso de anestésicos inhalantes dentro de la práctica clínica se le atribuye a Morton del Hospital General de Boston, en octubre de 1846, quien demuestra que el empleo del éter produce un estado indoloro para la cirugía. En pocos meses el éter fue ampliamente aplicado; poco tiempo después, en 1847, James Simpson, cirujano y obstetra inglés, anestesia por primera vez con cloroformo a un paciente y subsecuentemente esta sustancia sustituye al éter. El óxido nítrico fue introducido dentro de la práctica clínica en 1863 y 19 años después se dejó de utilizar. Estos tres compuestos fueron los únicos disponibles hasta la presentación del ciclo propano en 1933 y del tricloroetileno en 1934. El primer anestésico fluorinado, el fluoroxeno, fue comercializado en 1954 y seguido en 1956 por el halotano, precursor de la era moderna de los anestésicos sin potencia explosiva (Baden y Simmon, 1980).

Algunos investigadores se interesaron por los efectos dañinos sobre las personas ocupacionalmente expuestas a este tipo de sustancias. Los primeros informes indican que los principales síntomas provocados por ellos son: fatiga generalizada, cefalea y, en algunos casos, enfermedades cardiacas, estos padecimientos se deben a los residuos de los gases de la anestesia (Hirsch y Kappus, 1929; Werthmann, 1949).

Los hallazgos más convincentes son el incremento en la frecuencia de abortos espontáneos en el personal femenino del quirófano. Menos consistentes son los reportes de un aumento en la incidencia de malformaciones congénitas en la descendencia de hombres y mujeres expuestos en el cuarto de operaciones y una elevación en la ocurrencia de cáncer en el personal femenino del mismo lugar. En el caso de que los efectos deletéreos sean reales, el exponerse a los anestésicos inhalables representa un considerable riesgo a la salud pública (Baden y Simmon, 1980).

1.1 Propiedades físicas y químicas

Los anestésicos inhalables corresponden a un gas o líquido volátil a temperatura y presión normales. De los gases sólo el óxido nitroso (Tabla I) es comúnmente usado en la práctica clínica; los agentes explosivos como etileno y ciclopropano son desde 1980 poco empleados. Los anestésicos volátiles continuamente utilizados son algunos etanos o éteres halogenados (Tabla I). El éter dietílico, el éter divinílico, el cloroformo, el tricloroetileno y el fluoroxeno se dejan de aplicar en países como Estados Unidos de América a finales de los 70's, por ser fácilmente inflamables y más tóxicos que los administrados hoy, sin embargo existen países en los que el dietil éter y tricloroetileno son frecuentemente administrados (Baden y Simmon, 1980).

Meyer (1899) y Overton (1901), son los primeros en observar la capacidad narcótica de un anestésico, que es proporcional al coeficiente de partición aceite/gas (Tabla I). Ellos sugieren que dicha acción es debida a la presencia de disolventes anestésicos en los lípidos de las membranas celulares. Subsecuente a estos trabajos, varios investigadores se han interesado en explicar la base de la acción anestésica en los disturbios provocados en la función de la membrana celular. La solubilidad de los lípidos también determina el rango de eliminación del anestésico por el cuerpo; entre más soluble en lípidos sea éste, mayor tiempo tardará en eliminarse del organismo, ocasionando así mayor biodegradación y acumulación de toxinas y metabolitos potencialmente mutagénicos (Baden y Simmon, 1980).

La halogenación de hidrocarburos alifáticos causa disminución en su volatilidad e inflamabilidad, mientras que la halogenación de éteres solo hace que disminuya su solubilidad en agua y en algunos casos la incremente en lípidos. Los compuestos polihalogenados presentan mayor estabilidad que los monohalogenados (Baden y Simmon, 1980).

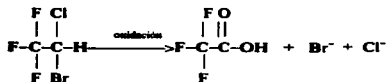
1.2 Metabolismo y toxicidad aguda

Antes de 1960, los anestésicos inhalables fueron considerados como ejemplos clásicos de drogas no biodegradables pero farmacológicamente activas, se pensó que estos compuestos eran bioquímicamente inactivos, el cuerpo los tomaba a través de los pulmones y eran excretados sin cambios por la misma vía (Baden y Simmon, 1980).

Sin embargo, en las últimas tres décadas los resultados de numerosos estudios evidencian que todos los anestésicos inhalables usados clínicamente son metabolizados *in vivo* por el sistema citocromo P-450 (enzimas de funciones oxidantes). Las de este sistema están situadas principalmente en el retículo endoplásmico liso (REL), que se encuentra en grandes cantidades en el hígado, siendo éste el lugar más frecuente de biodegradación de compuestos liposolubles incluyendo los anestésicos. El metabolismo también se lleva a cabo en riñón, pulmón y otros tejidos en menor grado. La deshalogenación oxidante y la O-desalquilación son las principales reacciones químicas involucradas en el metabolismo de anestésicos volátiles; es decir, la epoxidación puede ocurrir en la biotransformación de anestésicos que contienen la mitad de un grupo vinilo. Se ha demostrado una vía reductora para el halotano, aunque es cuantitativamente menos importante que la oxidante y tiene una implicación tóxica significativa (Cohen *et al.*, 1975).

1.3 Toxicidad

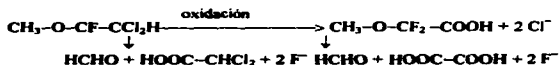
El halotano causa en algunas ocasiones, después de la cirugía, un mal funcionamiento del hígado, esto ha sido ampliamente estudiado, debido a que es metabolizado mediante oxidación a ácido trifluoroacético, bromuro y cloruro (Baden y Simmon, 1980), esta reacción se presenta en la siguiente forma:



Con los resultados obtenidos de los trabajos realizados por Van Dyke y Wood (1973), en hígado de rata y por Cohen (1969), en todo el cuerpo del ratón, mediante autorradiografía utilizando C^{14} , se detectan uno o dos metabolitos de halotanos unidos covalentemente a este isótopo. El ácido trifluoroacético no es tóxico y es inactivo, por otro lado, el trifluoroacetaldehído es un metabolito intermedio de la vía oxidante, es muy reactivo y puede estar ligado a macromoléculas tisulares. Los resultados de Widger *et al.* (1976), muestran que los niveles de uniones covalentes en el hígado se incrementan a bajas concentraciones de oxígeno. Los autores mencionados sugieren que el halotano sufre una desfluorinización reductora; además Cohen *et al.* (1975), aislan ácido mercaptúrico bromoclorodifluoroetano de la orina de pacientes a quienes se les administran los halotanos, la presencia de este metabolito implica la existencia de una vía reductora de desfluorinización y el hecho de que se lleva a cabo la reacción intermedia de bromoclorodifluoroetileno. Esta molécula tardía es probablemente un agente fuertemente alquilante (Cohen *et al.*, 1975).

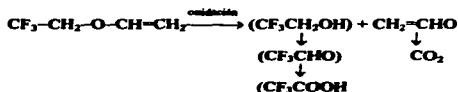
Se observa que cuando se administra metoxiflurano en altas concentraciones, ocasionalmente provoca hipertensión, excreciones urinarias frecuentes y alteraciones renales, este agente es mejor metabolizado que otros anestésicos debido a dos razones:

a) La molécula es comparativamente menos estable y puede ser atacada en cualquier carbono con dos cloros o en la unión éter (Baden y Simmon, 1980), como se muestra en la siguiente reacción:



b) Este es más liposoluble que cualquiera de los otros anestésicos empleados clínicamente, por lo tanto es retenido por más tiempo en el cuerpo. Mazze *et al.* (1971), descubren que el ion fluor inorgánico (F^-) obtenido como producto final del metabolismo del metoxifluorano puede alcanzar concentraciones suficientes para ser directamente nefrotóxico; otro metabolito final de esta biodegradación, es el ácido oxálico que en altas concentraciones es posible que contribuya a un mal funcionamiento renal.

El fluoroxeno, aunque poco usado desde 1980, es importante estudiarlo por ser muy tóxico para algunas especies. Una vía sugerida para este metabolismo es la siguiente:



Gion *et al.* (1974), describen que el principal producto final del metabolismo del fluoroxeno es el ácido trifluoroacético, que no es muy tóxico, sin embargo, en ratas, ratones y perros, entre otras especies, los productos finales de esta biodegradación son el trifluoroetanol y trifluoroacetaldehído muy dañinos para el hígado y el riñón.

El cloroformo, que desde 1980 es raramente utilizado, se considera un clásico hepatotóxico. Brown y Sagalyn (1974), encuentran que el daño al hígado causado por este anestésico es dependiente de la concentración, además observan que el metabolismo se incrementa en animales pretratados induciéndolos enzimáticamente con fenobarbital. Bett *et*

al. (1973), demuestran que los productos del metabolismo del cloroformo están unidos covalentemente a macromoléculas del hígado, lo cual indica que los radicales libres formados durante la biodegradación de este anestésico son los responsables de las alteraciones en el hígado y en otros órganos.

Al tricloretileno (TEC) se le ha conferido cierto interés por ser el primer anestésico inhalante al que se le descubre su biotransformación, además se usa con dióxido de carbono facilitando su absorción pudiendo formar el dicloroacetileno del que se ha descrito que provoca parálisis en nervios craneales o incluso la muerte cuando es aplicado de esta manera. Henschler *et al.* (1977), detectan que el TCE es transformado a ácido tricloroacético, tricloroetanol y monocloraacético pasando por dos intermediarios, un epóxido e hidrato de cloruro mediante biodegradación *in vivo*. Banerjee *et al.* (1977), encuentran un metabolito de este anestésico covalentemente unido a una proteína cromosómica y al DNA del espermatozoide del salmón y el grado de unión es correlacionado con la inducción de tumores.

1.4 Carcinogenicidad

Los trabajos de Bruce *et al.* (1968, 1974), se realizan con base en las muertes de miembros de la Sociedad Americana de Anestesiólogos durante los intervalos de 1947-66 y 1967-71. Ambos estudios tienen serios defectos en la metodología, pero los resultados sugieren que los anestésicos incrementan el riesgo de muerte por suicidio, además de un leve aumento de muerte por tumores en los sistemas linfático y reticuloendotelial que reportan en el primer estudio, pero en el segundo demuestran que tal incremento no es significativo.

Doll y Peto (1977), llevan a cabo una investigación con 20,000 médicos británicos de sexo masculino de más de 20 años, donde no se evidencia elevación en la mortalidad, sin embargo, en anestesiólogos de tiempo completo se reportan 5 muertes por cáncer pancreático, mientras que sólo se esperaban 1.7.

Poirier *et al.* (1975), observan que los anestésicos, halotano y cloroformo son alquilantes; metil yoduro, butil bromuro, butil cloruro y butil yoduro son moléculas muy parecidas químicamente a carcinógenos de animales y el tricloroetileno es un halógeno, semejante al carcinógeno de humanos cloruro de vinilo (Creach y Jhonson, 1974), que causa angiosarcoma de hígado en el hombre (Block, 1974) y en los animales (Viola *et al.*, 1971) (Tabla II).

Corbett *et al.* (1973), examinan una población de 525 enfermeras anestestistas de Michigan e informan una alta incidencia de cáncer, sin embargo Walts *et al.* (1975) y Veasey (1978), no están de acuerdo con estos resultados, considerando además de que estos trabajos no prueban la relación entre el cáncer y los anestésicos, otros investigadores también atribuyen los efectos a diversas causas, por ejemplo Fink y Cullen (1976), sugieren que el estrés del personal del quirófano es tan semejante a un factor en el cáncer ocupacional como es la contaminación por los niveles señalados de la inhalación de los anestésicos.

Bruce *et al.* (1968, 1974), reportan que varias de las personas expuestas a anestésicos mueren por cáncer causado por estos agentes. En un estudio de Corbett (1976), donde por inalación el anestésico isofluorano, el cual es un alfa haloéter, penetra por vía respiratoria, notándose aumento en la ocurrencia de tumores en hígado de ratones suizos ICR machos expuestos pero no así en el de hembras, sin embargo Baden y Simmon (1980), cuestionan este estudio ya que consideran que hay varios factores que no son evaluados.

1.5 Teratogenicidad

Veisman (1967), Askrog y Harvald (1970), Cohen *et al.* (1971) y Knill-Jones *et al.* (1972), describen alta incidencia de abortos espontáneos entre el personal femenino de los quirófanos. Aunque según Baden y Simmon (1980), todos estos trabajos no prueban que los anestésicos hayan sido la causa de este efecto.

Los experimentos realizados por Askrog y Harvald (1970), Cohen *et al.* (1971), Knill-Jones *et al.* (1972), Rosenberg y Kirves (1973), Corbett *et al.* (1974), Knill-Jones *et al.* (1975) y Pharoah *et al.* (1977), describen malformaciones en la descendencia de mujeres expuestas, aunque estos trabajos son menos consistentes que los que se refieren a los abortos espontáneos. Además los estudios llevados a cabo por Askrog y Harvald (1970) y Knill-Jones (1975), demuestran la presencia de abortos en las esposas y malformaciones en la descendencia de hombres expuestos a anestésicos, también los resultados de estas investigaciones son poco consistentes y las conclusiones firmes deben obtenerse de futuros estudios.

Knill-Jones *et al.* (1972), reportan incremento en la infertilidad de mujeres anestesiadas, mientras que en 1975 los mismos autores evidencian que en hombres de la misma profesión no se encuentra tal incremento.

1.6 Efectos celulares

Los efectos de los anestésicos en la división celular han sido analizados desde hace más de 100 años. Bernard en 1878, demuestra que los vapores del éter inhiben el crecimiento de las plantas y la división celular en la germinación. Cinco años más tarde Martin (1883), informa que las semillas expuestas a una mezcla de gases del 80% de óxido

nitroso/12% oxígeno tardan el doble del tiempo para germinar. En 1944, Ostergren describe que cuando se exponen las puntas de las raíces de *Allium cepa* a óxido nitroso, cloroformo, tricloroetileno o dietil éter, se observa un fenómeno c-mitótico (muy semejante al causado por la colchicina), este trabajo ofrece una explicación a los resultados de experimentos anteriores, en los que se nota inhibición de la división celular. El interés en este tema se retoma cuando en 1956, Lassen *et al.* reportan una severa depresión en la médula ósea causando granulocitopenia y trombocitopenia en pacientes con tétanos como resultado de exposiciones prolongadas al óxido nitroso.

Yersen (1966) concluye que el dietil éter, cloroformo, óxido nitroso, ciclopropano y etileno afectan el huso mitótico provocando inhibición de la mitosis. Además estos efectos ocurren a concentraciones usadas clínicamente, siendo su acción muy semejante al de la colchicina o al del hidrato de cloral, los cuales son los agentes más efectivos y específicos para detener la mitosis (Baden y Simmon, 1980). Sturrock y Nunn (1976 a, b) usan fibroblastos de criceto chino para probar que la cantidad de células binucleadas y trinucleadas y de células con micronúcleos se incrementan después de la exposición al halotano y al óxido nitroso. Kusyk y Hau en 1976, descubren que el halotano, el enflurano y el metoxifurano inducen errores en la segregación de los cromosomas de las células de mamíferos en cultivo e *in vivo*. Grant *et al.* (1973, 1974, 1977) y Grant y Powell (1977) mencionan que los anestésicos inhalantes causan anomalías cromosómicas en las puntas de la raíz del haba (*Vicia faba*). Un estudio posterior realizado por Coate *et al.* (1979), muestra que la exposición a dos concentraciones de una combinación de óxido nitroso y halotano aumenta la cantidad de aberraciones cromosómicas en espermatogonias de rata.

Existen datos que indican que los efectos en el ciclo celular provocados por los anestésicos, no sólo son en la fase de mitosis, si no que también en otras etapas, como por ejemplo: Sturrock y Nunn (1975, 1976b) analizan las fases G₁ y S del ciclo celular y

describen que en fibroblastos de criceto chino en cultivo expuestos a halotano en concentraciones clínicas se observa una leve pero significativa disminución de [^3H]-timidina, mientras que los resultados obtenidos por Bruce y Traurig en 1969, evidencian que hay retraso en la aparición fase S, por una prolongación de G₁.

1.7 Mutagenicidad

1.7.1 Tricloroetileno

De los anestésicos, el tricloroetileno (TCE) ha sido el más estudiado, por ser el primer agente halogenado con gran aceptación clínica, además por ser producido en grandes cantidades para otros usos comerciales.

Greim *et al.* (1975, 1977), detectan que el TCE es mutagénico para *E. coli* cepa K12 y Uehleke *et al.* (1976), obtienen lo contrario; mientras que Cerná y Kypénová (1977), indican que este anestésico también es mutagénico para las cepas TA1535 y TA1538 de *Salmonella typhimurium* sin activación metabólica y aumenta la frecuencia de revertantes de las cepas TA1950, TA1951 y TA1952 *in vivo* usando un hospedero mediador. Baden y Simmon (1980), demuestran que sólo cuando el TCE es probado *in vivo* los resultados son positivos y dependen de la concentración.

Simmon *et al.* (1977) y Baden *et al.* (1979), señalan que los vapores del TCE a concentración aproximada de 1% son mutagénicos en ensayos con la cepa TA100 de *S. typhimurium*, sin activación metabólica y para la cepa TA1535 la respuesta es negativa, además los experimentos realizados con mezclas en suspensión de líquidos también arrojan datos negativos.

Otros análisis donde se emplea el sistema de *Salmonella* han sido negativos. Uehleke *et al.* (1977), detectan que para *S. typhimurium* de las cepas TA1535 y TA1538 no hay revertantes de histidina a una concentración del TCE a 3.6 mM en la presencia de activación metabólica. Uehleke *et al.* (1976), inyectando intraperitonealmente TCE marcado con ^{14}C en ratón observan que los metabolitos derivados de este anestésico se encuentran preferentemente en hígado, retículo endoplásmico y lípidos. Bartsch *et al.* (1976) y Barbin *et al.* (1978), describen que los vapores de TCE en el aire no son mutagénicos para la cepa TA100 cuando se prueba en presencia de S9 de ratón pretratado con fenobarbital. Henachler *et al.* (1977), concluyen que el TCE no es mutagénico para la cepa TA100, aunque el método que se usa es poco sensible para detectar los mutágenos volátiles; en la misma publicación los investigadores determinan que los contaminantes del TCE, el epíclorohidrido y el 1,2-epoxibutano son sumamente mutagénicos.

Waskell (1978), nota que las cepas TA98 y TA100 de *S. typhimurium* en concentraciones de 0.5 a 10% de vapores de TCE en un recipiente pequeño y sellado por 48 h no incrementan la cantidad de revertantes ni en presencia o ausencia del homogeneizado de hígado de rata, además encuentra que 50 μl de TCE no elevan la cantidad de rompimientos de hebra sencilla de DNA cuando incuba bajo condiciones fisiológicas con 0.4 ml de la mezcla que contenía la doble hebra circular del DNA radiactivo del fago PM2.

Shabin y von Borstel (1977), observan aumento en la reversión en *Saccharomyces cerevisiae* en las cepas XV185-14C con varias concentraciones (0.1-20 $\mu\text{l/ml}$ /célula) de TCE en la presencia del sistema activación metabólica a partir de hígado de ratón macho, sin embargo no hay acción mutagénica en ausencia del sistema metabólico; los autores concluyen que el TCE es un mutágeno poderoso que induce mutaciones por sustitución de bases.

El TCE (0.2 ml/6.2 ml de mezcla de reacción) causa la reversión (mutación puntual) en el locus *ilv* y una conversión de genes mitóticos en el locus *trp* en *S. cerevisiae* D7 cuando se aplica en suspensión por 4 h a 37°C con un sistema de activación metabólica de un preparado de hígado de ratón macho (Bronzetti *et al.*, 1978); el incremento de ambos loci es reproducible y relacionado con la concentración, estos efectos también se logran sin activación metabólica. Cuando se usa un hospedero mediador, siendo éste un ratón, al cual se le aplican por vía intravenosa células de *S. cerevisiae* D4 y se le da una dosis oral única de

400 mg/Kg. se evidencia elevación en la conversión de genes en los loci *hprt* y *ade* de la levadura, el aumento es muy grande en células tomadas del hígado y riñón y menos en el caso de las de los pulmones. Más tarde se realiza un experimento semejante sólo que en lugar de emplear la cepa D4 de *S. cerevisiae*, se utiliza la D7, donde se eleva la conversión de genes del locus *hprt* y la reversión en el locus *hsv*. Notándose que los valores mayores de convertantes son en las células que recubren hígado y riñón, pero no en las de pulmón. La suma de las convertantes de *hprt* es más grande con D7 que con D4, lo cual sugiere que la cepa D7 es más sensible a los efectos mutagénicos de los metabolitos del TCE; desafortunadamente no se hace la comparación de la sensibilidad relativa de estos dos indicadores *in vivo* (Baden y Simmon, 1980).

Fahrig (1977 a, b), demuestra que una inyección de 1 mmol/Kg de TCE provoca elevación en la cantidad de manchas coloreadas en un ratón adulto negro, indicando aumento en las mutaciones génicas o en procesos de recombinación. Todos estos estudios evidencian que el TCE es un agente mutagénico cuya acción va de débil a moderada.

1.7.2 Fluoroxeno

Baden *et al.* (1976b, 1978a), describen que el anestésico volátil fluoroxeno es mutagénico para las cepas TA1535 y TA100 de *S. typhimurium* y la WP2 de *E. coli*, mientras que en las TA1537 y TA98 de *S. typhimurium* con enzimas inducidas de humanos y de roedores no se observa tal efecto. El trifluoroetanol, que es un metabolito del fluoroxeno y la orina de ratas anestesiadas con este compuesto no son mutagénicos. Los autores concluyen que este agente es un promutágeno débil el cual requiere preincubación con enzimas de hígado para ser activado. White *et al.* (1979), señalan que este anestésico incrementa el intercambio de cromátidas hermanas (ICH) en células de ovario de criceto chino. Al exponer células en división por 1 h a una concentración de 2.5% de vapores de fluoroxeno (1 MAC)¹; el ICH se eleva significativamente de 0.536 ± 0.018 a 1.147 ± 0.030 por cromosoma.

¹ MAC es la concentración alveolar mínima requerida para prevenir la actividad reflejo en el 50% de los pacientes sujetos a estímulos nocivos

Baden *et al.* (1979), encuentran que el divinil éter es mutagénico para las cepas TA100 y TA1535 de *Salmonella* con activación S9 de mamíferos. Posteriormente realizan otros experimentos con cepas del mismo tipo, las cuales son tratadas durante 8 h con vapores de este anestésico a concentraciones por arriba del 1% sin activación metabólica incrementándose la frecuencia de revertantes conforme se aumenta la dosis, al agregar la mezcla S9 se observa una repuesta mutagénica, mientras que cuando se incuba por 2 h en este agente en estado líquido a concentraciones entre 1 y 30%, no se describe efecto mutagénico, no así después de agregar S9. White *et al.* (1979), informan que la exposición durante 1 h a 1.79% de divinil éter (1 MAC) provoca ICH en las células del ovario de criceto chino, estos resultados son de sumo interés, ya que con ellos se demuestra que tanto el fluoroxeno como el divinil éter son mutagénicos a las concentraciones usadas clínicamente.

1.7.3 Otros anestésicos

El óxido nitroso, el ciclopropano, el dietil éter, el halotano, el cloroformo, el enflurano, el isoflurano y el metóxiflurano, no son mutagénicos cuando se prueban en *Salmonella* activada con el sistema microsómico S9 de mamíferos, usando una variedad de cepas y diversas concentraciones (Uehleke *et al.*, 1976; 1977; Baden *et al.*; 1976a; 1977; 1979; Greim *et al.*, 1977; Simmon *et al.*, 1977; Waskell, 1978). Además la orina de pacientes anestesiados con halotano, enflurano, isoflurano, y metoxiflurano no presenta una actividad mutagénica según Baden *et al.* (1976a, 1977).

El ácido trifluoroacético, el trifluoroetanol y el trifluoroacetaldehído hidratado no manifiestan actividad mutagénica en *Salmonella* cuando se someten a diferentes concentraciones (Baden *et al.*, 1976a; Waskell, 1978). Un presumible metabolito del halotano, es el 1,1- difluoro-2-bromo-cloroetileno (CF_2CBrCl) que no es mutagénico en el ensayo estándar con *Salmonella* (Edmunds *et al.*, 1979; Waskell, 1979). El halotano produce dos metabolitos volátiles, el 1,1,1-trifluoro-2-cloroetano ($\text{CF}_3\text{CH}_2\text{Cl}$) que tampoco es mutagénico (Edmunds *et al.*, 1979; Waskell, 1979) sin embargo, el 1,1-difluoro-2-cloroetileno (CF_2CHCl) es un mutágeno débil (Garro y Philips, 1977; Edmunds *et al.*, 1979); también la orina de los anestesiólogos ha sido examinada para rectificar su actividad mutagénica, usando el sistema de *Salmonella*, un reporte temprano indica que 11 de 15

anestesiólogos que han trabajado en el cuarto de operaciones, tienen mutágenos en su orina (McCoy *et al.*, 1977), sin embargo, estudios posteriores con gran cantidad de personal de quirófano no confirman lo anterior (Baden *et al.*, 1978b).

El halotano y el cloroformo en *Salmonella* se han aplicado también a la cepa K12 de *E. coli* (Kraemer *et al.*, 1974; Uehleke *et al.*, 1976) y el disil éter a la cepa P3478 de *E. coli* (Fluck *et al.*, 1976), en ninguno de los casos los anestésicos son mutagénicos.

Con excepción del cloropropano, todos los anestésicos han sido analizados en concentraciones mayores de 1 CAM (Tabla I) durante 1 h usando las células del ovario de criceto chino, donde al registrarse el ICH, se obtienen resultados negativos (White *et al.*, 1979).

El óxido nítrico, el halotano, el cloroformo y el enflurano son ensayados para verificar efectos mutagénicos usando la resistencia al 8-azaguanina en fibroblastos de pulmón de criceto chino en crecimiento en cultivo, obteniéndose un incremento no significativo en el número de las mutaciones encontradas (Sturrock, 1977 a, b).

Antoku (1977), prueba que una solución saturada de óxido nítrico incrementa el rompimiento de las hebras del DNA en células de ratones leucémicos L5178Y expuestas a rayos gamma de ^{60}Co ; estos estudios demuestran que la anestesia puede interactuar con otros factores tanto químicos como físicos produciendo efectos mutagénicos.

Varios investigadores han usado *Drosophila* para examinar la potencia mutagénica de los anestésicos. En un estudio temprano, Morgan (1914), encuentra que el disil éter inhalado por 11 días consecutivos no produce mutaciones en *D. ananassaphila*. En otro reporte, Krechovsky y Shkvat (1973), notan que el halotano no causa efectos mutagénicos en las células sexuales de *D. melanogaster* macho. Por otro lado, Garrett y Fuerst (1974), evidencian que el óxido nítrico incrementa la cantidad de mutaciones letales recesivas ligadas al sexo.

El único reporte que contiene resultados positivos con el halotano es el realizado por Kramer y Burm (1979), en *D. melanogaster* usando las mutaciones letales recesivas ligadas al sexo como un indicador de daño genético. Los machos adultos son expuestos a este agente durante 14 días a 1000 y 1600 ppm (v/v) o por 1 ó 2 días a 2100 ó 20000 ppm; los resultados de los experimentos para concentraciones altas de vapor son negativos, mientras que en varios estudios a largo plazo a concentraciones bajas se observa ligero incremento en las frecuencias de mutaciones.

Usando 2 clones (02 y 4430) de *Tradescantia*, Sparrow y Schairer (1974) detectan que el óxido nítrico eleva el rango de mutaciones en células de pétalos y pelos estaminales; sin embargo, el intervalo de respuesta máxima es menor del doble de la frecuencia espontánea, así que los autores concluyen que este anestésico es un mutágeno débil.

1.7.4 Efectos del óxido nítrico en plantas

En 1944, Östergren *et al.* describen que cuando las plantas de *Crepis capillaris* son tratadas con óxido nítrico a una presión de 10 atmósferas durante 4 a 6 h, tiempos en los que se llevan a cabo la primera y la segunda divisiones mitóticas del cigoto, causa poliploidías y aneuploidías en su descendencia; subsecuentemente este autor en 1957 usa un método similar de exposición, con el que corrobora el mismo efecto en *Phalaris canariensis* y *Ph. paradoxa*; diversos investigadores con una metodología parecida demuestran los mismos efectos en varias plantas (Nygren, 1955; Montezuma-De-Carvalho, 1967; 1973; Dorvak y Harey, 1973; Dorvak *et al.*, 1973; Subrahmanyam y Kasha, 1973; 1975; Dumas *et al.*, 1974; Taylor *et al.*, 1976; De Carvalho *et al.*, 1977).

1.8 Sistemas de prueba

Se han desarrollado diversos sistemas biológicos de prueba que abarcan gran variedad de organismos tanto animales como vegetales, para ser usados como indicadores del daño genético inducido por mutágenos físicos y químicos, con el fin de obtener un panorama general del peligro que implican para el ser humano.

La posibilidad de riesgo a la salud en la práctica de anestesia ha sido discutida ampliamente (Spence y Knill-Jones, 1978), además de ser objeto de diversas investigaciones (Baden *et al.* 1977, 1978a, Waskell 1978, White *et al.* 1979, Baden y Simmon 1980), ya que, los resultados de varios de estos estudios indican indirectamente que trabajar en un ambiente contaminado con los gases de los anestésicos puede ser un riesgo para la salud, aunque, no se ha establecido una relación causal (Husum *et al.*, 1982b).

1.8.1 Intercambio de cromátidas hermanas

El cultivo de células humanas y en especial de linfocitos periféricos, tienen ventajas que los hacen adecuados para este tipo de estudios, debido a que se puede obtener fácilmente una población celular numerosa (Evans y O'Riordan, 1975) y por medio de mitógenos como la fitohemaglutinina, inducirlos a dividirse *in vitro* (Crossen y Morgan, 1977), lográndose una cantidad considerable de linfocitos en metafase.

El descubrimiento de la técnica de intercambio de cromátidas hermanas es realizado por Taylor *et al.* (1957), al marcar los cromosomas vegetales con timidina tritiada en la primera de dos divisiones subsecuentes y observando por medio de autorradiografía, encuentran que los cromosomas de las células que se dividen dos veces presentan sólo una de las dos cromátidas marcadas con segmentos intercambiados. Posteriormente Latt (1974), emplea por primera vez un colorante fluorocromado llamado Hoechst 33258 ó bisbenzimidazol, el cual se une a las regiones del cromosoma que incorporan un análogo de base, la 5-bromodesoxiuridina (5-BrdU).

Para visualizar la incorporación de éstos por dos ciclos celulares, se utilizan colorantes fluorocromados como el bisbenzimidazol o el naranja de acridina, que emiten fluorescencia que disminuye en intensidad en presencia de la 5-BrdU, debido a que los átomos pesados como el bromo son capaces de apagarla (Latt, 1982).

Sin embargo, aunque esta técnica hace patente la incorporación del análogo en el DNA, presenta varias desventajas, como son el requerimiento de un microscopio de fluorescencia y el decaimiento de la intensidad de ésta con el tiempo; por lo cual se ha aplicado Giemsa después de la fluorescencia, lográndose así una tinción permanente (Perry y Wolff, 1974; Latt, 1982).

La detección de los ICH con este procedimiento permite la cuantificación fina del evento, por lo que se introduce una nueva metodología para la identificación de mutágenos ambientales ya que este sistema se considera como un indicador sumamente sensible del daño producido sobre el DNA por la acción de agentes químicos (Kato, 1974; Latt, 1974; Craig-Holmes, 1977; Wolff, 1977; Latt *et al.*, 1981; Takehisa, 1982).

Con esta prueba es posible detectar mutágenos tanto directos como aquellos que requieren de la activación metabólica (Latt *et al.*, 1981), además de ser posible monitorear los contaminantes ambientales en poblaciones humanas ya que se pueden realizar estudios tanto en personas expuestas como *in vitro* (Latt *et al.*, 1981; Lambert *et al.*, 1982).

El intercambio de cromátidas hermanas (ICH) desde el punto de vista molecular es un fenómeno que implica transposiciones simétricas de DNA de doble cadena equivalentes entre las dos cromátidas de un mismo cromosoma. Algunos estudios han evidenciado que el proceso de ICH requiere que la célula pase por la etapa de síntesis (S) del DNA (Wolff, 1974) y se ha sugerido que es durante o inmediatamente después de que se ha formado la horquilla de replicación cuando se lleva a cabo el intercambio de doble banda entre las cadenas de DNA (Kato, 1974).

Resultados experimentales apoyan el hecho de que es durante la fase (S) el momento en que se lleva a cabo el intercambio de cromátidas, aunque los mecanismos moleculares de la formación de dicho evento no sea del todo conocido, ya que posiblemente existen diversas causas que desencadenan el proceso, es decir, que el ICH puede ser inducido por múltiples circunstancias, como por ejemplo el daño al DNA (Perry y Evans, 1975; Abe y Sasaki, 1977; Nakanishi y Schenider, 1979), inhibición del proceso de síntesis de DNA (Ishii y Bender, 1980; Rainaldi y Mariani, 1982), supresión de las enzimas involucradas en dicho proceso (Ishii y Bender, 1980), inhibición de enzimas involucradas en la reparación (Oikawa *et al.*, 1980; Morgan y Cleaver, 1982) o por un agente promotor de cáncer, no involucrado en la producción de lesiones sobre el DNA (Kinsella y Radman, 1978; Schwartz *et al.*, 1982).

Existen varios modelos propuestos para explicar la formación de ICH, sin embargo el más aceptado es el de Painter(1982), ya que la mayoría de ellos son inconsistentes con las observaciones experimentales, mientras que éste es congruente con las bases teóricas

(estructura y replicación del DNA) y las experimentales, y se basa en la idea de que los rompimientos de doble hebra (hebra progenitora), ocurre frecuentemente en las conjunciones de grupos de replicones adyacentes durante su replicación. Es decir, que los ICH se originan en el punto entre un replicón completamente duplicado y otro parcialmente duplicado (Fig. 1). La hipótesis considera que existe reducción en la velocidad de desplazamiento de la horquilla de replicación del DNA, el cual genera 4 extremos libres (dos nacientes y dos progenitores de un grupo de replicones completamente duplicados y opuestos a los extremos libres progenitores) del replicón adyacente que se encuentra parcialmente duplicado. Esto conduce a la conexión entre los grupos de replicones en los cuales un segmento duplicado se encuentra al lado de un segmento no duplicado (como es normal durante el periodo S, en las uniones de la eucromatina y la heterocromatina), sugiriendo que los rompimientos de la molécula de DNA de doble banda en estas conexiones, son formados y reunidos de manera espontánea y el sellado quizás es catalizado por una topoisomerasa II, la cual ha sido localizada en diferentes eucariontes. Ocasionalmente en lugar de que ocurra una reunión normal, el rompimiento se sella por unión de las hebras hijas de una molécula replicada a la molécula no replicada. Una vez que esto ocurre, el ICH es iniciado cuando las hebras hijas nacientes de un grupo se combinan con las hebras progenitoras de un grupo parcialmente replicado y solo cuando estos terminan de duplicarse se genera totalmente el ICH (Fig. 1). Este intercambio requiere de un solo evento, el rompimiento es de hebra doble, el cual es consistente con los datos que muestran que los ICH son producidos en función lineal a la dosis del agente (Painter 1982).

A pesar de ser el mejor modelo propuesto para la formación de los ICH, tampoco existen evidencias directas, no obstante es de gran valor y buenas expectativas desde el punto de vista molecular de dichos eventos.

A partir de la postulación del modelo preciso de la estructura del DNA por Watson y Crick en 1953 y de la duplicación semiconservadora del material genético, establecida por Taylor y colaboradores en células eucariontes en 1957 y por Messelson y Stahl en células procariotas en 1958. Se han utilizado precursores del DNA de distinta naturaleza, ya sea radioactivos marcados con distintos isótopos como son ^{14}C , ^{32}P y Tritio (H^3) principalmente y no radioactivos tales como 5-BrdU entre otros, que sometidos a distintos tratamientos y/o siendo analizados por tinciones específicas al microscopio (Latt *et al.*, 1975), han permitido una diferenciación de las cromátidas hermanas (Tice *et al.*, 1976).

La BrdU es un nucleósido halogenado análogo de la timina que puede ser incorporado a las cadenas de DNA en formación (Latt *et al.*, 1981).

La incorporación de la BrdU en el DNA es necesaria para la tinción diferencial de cromátidas hermanas e identificación de células en metafase que han pasado por uno, dos o tres ciclos de replicación (Fig. 2). Después de un ciclo de replicación en presencia de BrdU los cromosomas en metafase poseen sus cromátidas unifilarmente sustituidas, cuando han pasado por dos ciclos, los cromosomas presentan una de sus cromátidas unifilarmente sustituidas y la otra bifilarmente sustituidas (Tice *et al.*, 1975).

Los linfocitos circulantes están normalmente en reposo (G_0) para hacerlos proliferar *in vitro*, se utilizan una serie de mitógenos, de los cuales el más común es la fitohemaglutinina (PHA), una glucoproteína extraída de *Phaseolus vulgaris*. Se considera que la PHA induce la división celular en linfocitos T de humanos y de otras especies de mamíferos (Roitt *et al.*, 1989).

Por lo tanto, un sistema útil para evaluar los mutágenos/carcinógenos ambientales, puede ser el análisis del intercambio de cromátidas hermanas (ICH) en linfocitos de sangre periférica (Latt *et al.*, 1979), además de ser el método citológico más sensible para evaluar a estos agentes (Perry y Evans, 1975). Estudios experimentales y epidemiológicos han indicado indirectamente que trabajar en un ambiente contaminado con gran cantidad de gases anestésicos puede ser un riesgo para la salud, pero nunca se ha establecido una relación causal (Husum *et al.*, 1982b).

1.8.2 Cinética de proliferación de linfocitos (CPL)

En paralelo con otras técnicas, para el análisis de intercambio de cromátidas hermanas y de aberraciones cromosómicas, el rango de estimulación por mitógenos en la cinética de proliferación de linfocitos (CPL) se utiliza principalmente para evaluar la genotoxicidad a concentraciones citotóxicas de compuestos químicos. La CPL puede ser afectada por varios factores fisiológicos como son la edad del donador (Wen y Liew, 1983; Malaragno y Smith, 1990), el estado de salud (Dutrillaux y Fose, 1976; Mutchinick *et al.*, 1979; Kierzenbaum *et al.*, 1990; Szein *et al.*, 1990) y las condiciones del cultivo (Obe *et al.*, 1975; Mutchinick *et al.*, 1980; Wolff *et al.*, 1984; Speit *et al.*, 1986; Gonsbatt y Mutchinick, 1990; Larramendy *et al.*, 1990).

La cinética de proliferación de linfocitos es evaluada mediante el índice de replicación celular (IR) y el índice mitótico (IM).

1.8.3 Micronúcleos

Los micronúcleos (MN) se encuentran por primera vez en las células de sangre en 1891 por Howell y más tarde son descritos por Jolly (1905), por eso se llaman cuerpos de Howell-Jolly, ocurriendo en sangre periférica en conexión con varios trastornos sanguíneos y son específicamente asociados con esplenía (Jensen, 1982).

La formación de micronúcleos está asociada con diferentes estados del ciclo celular dependiendo del mecanismo de acción del agente inductor por ejemplo, los agentes alquilantes producen micronúcleos durante G₁ y S, mientras que con los rayos-X es en G₂ (Hittelman y Rao, 1974), aunque también pueden ser promovidos durante la mitosis por un efecto destructivo en las fibras del huso mitótico, que puede ser más o menos específico, presumiblemente como una consecuencia de distintos tipos de acción en los mecanismos de las fibras del huso (Önfelt y Ramel, 1979).

La prueba de micronúcleos se aplica para cuantificar el rompimiento cromosómico en tejidos epiteliales de individuos expuestos a carcinógenos y una disminución de MN indica la actividad anticlastogénica de agentes quimiopreventivos (Rosin, 1992).

Para usar la prueba de micronúcleos en tejidos epiteliales, es necesario entender su cinética de producción. Los epitelios son clasificados con base en la cantidad de capas de células en el tejido y las formas de las células superficiales. El estudio del epitelio plano estratificado es de importancia porque es característico de tejidos como del cérvix y de la cavidad oral (Fig. 3). Estos tejidos están constituidos por células basales, intermedias y superficiales. La capa basal posee células capaces de renovarla, que se dividen para originar células hijas y al madurar se transforman en células cornificadas y migran a la superficie para reemplazar a las células perdidas (Rosin, 1992).

Al sufrir daños cromosómicos las células basales del epitelio se inducen los MN (Fig. 3); y cuando éstas se dividen los fragmentos acéntricos o los cromosomas enteros que no están unidos al huso mitótico quedan excluidos de los núcleos principales de las células hijas.

Estos fragmentos o cromosomas generan sus propias membranas y se presentan como cuerpos específicos que tiñen con Feulgen, llamados micronúcleos, los cuales se localizan en el citoplasma, estas células después de madurar son exfoliadas. Estudios tempranos llevados a cabo en laboratorios con pacientes de cáncer que recibieron radioterapia en la región de la cabeza y del cuello presentan incrementos de micronúcleos en las células de la mucosa del área radiada después de una semana de haber empezado el tratamiento (Stich y Rosin, 1983).

Kratochvil *et al.* (1991), encuentran que los MN espontáneos están principalmente formados por rompimientos cromosómicos y sólo una porción pequeña la constituyen los causados por fallas en la segregación cromosómica.

El ensayo de micronúcleos en cultivo de linfocitos ha sido usado recientemente como monitor biológico de poblaciones expuestas a agentes mutagénicos y cancerígenos (Sarto *et al.*, 1990); esta prueba también se puede llevar a cabo en células de la mucosa oral (Hogstad, 1984; Stich *et al.*, 1985), pulmón, esófago, cavidad nasal, lengua y en células uroepiteliales obtenidas por centrifugación de muestras de orina, cérvix y vejiga (Rosin, 1992). Los micronúcleos se forman tanto por daños en el huso como por alteraciones centroméricas que impiden que los cromosomas migren a los polos o bien por fragmentos cromosómicos (Díaz *et al.*, 1990).

La prueba de MN al principio muestra serias limitaciones, ya que las células exfoliadas sufren un proceso degenerativo que ocasiona anomalías que dificultan la distinción de los micronúcleos (Stich *et al.*, 1985; Sarto *et al.*, 1987). Sin embargo, con las modificaciones hechas al ensayo por Tolbert *et al.* (1992), estas alteraciones se han identificado que son el resultado de fenómenos que pueden revelar carcinogénesis.

Las anomalías a las que se refieren Tolbert *et al.* (1992), son: (1) las células binucleadas o la presencia de dos núcleos en una célula, (2) el rompimiento de huevo (Sarto, 1988 según Tolbert, 1992) o núcleos que parecen unidos por una banda que da reacción de Feulgen negativa, (3) la pycnosis o núcleo contraído, (4) la condensación cromatínica, en la cual la cromatina nuclear parece estar agregada, (5) la cariorrexis o desintegración nuclear

involucrando pérdida de la integridad del núcleo y (6) la kariolisis o disolución nuclear dando reacción negativa de Fulgen, es la imagen de la sombra de la remanencia del núcleo (Fig. 4).

La binucleación no parece involucrar directamente la interacción con el DNA, más bien, la interferencia con estos eventos ocurre más tarde en la división celular. Las consecuencias de la binucleación son desconocidas (Tolbert, 1992). El "rompimiento de huevo" es un nombre que Sarto (1988 según Tolbert, 1992) ha aplicado recientemente a las anomalías muy aparentes de origen desconocido y significativo. La picnosis y la condensación cromatínica son normalmente correlaciones normales de maduración y diferenciación celular epitelial. Sin embargo, éstas ocurren a niveles elevados en respuesta al daño celular (Tolbert, 1992). Por ejemplo, la picnosis, la condensación cromatínica y la kariolisis acompañan a la queratinización, que es una respuesta adaptativa al daño celular en epitelios normalmente no queratinizados (Pindborg *et al.*, 1980; Shklar, 1968), pero también la picnosis, la condensación cromatínica, la kariorrhexis y la kariolisis son evidencia de células que sufren de necrosis, una forma de muerte celular que ocurre después del daño por agentes que causan fuertes perturbaciones en el ambiente celular (Wyllie, 1981). La picnosis, la condensación cromatínica y la kariorrhexis (pero no la kariolisis) acompañan estados tempranos de otro tipo de muerte celular, conocida como apoptosis. Se cree que la apoptosis es el mejor modelo de muerte celular en tejidos vivos, parece estar bajo control fisiológico y efectos de muerte celular ordenada semejante a lo que ocurre en la embriogénesis (Wyllie, 1981; Kyriakou *et al.*, 1990), debido a que es estimulado tanto por radiación ionizante como por agentes químicos que unen al DNA, la apoptosis también puede servir como un vigilante, eliminando células con daño genético; entonces, si la apoptosis sobrepasa los niveles normales, puede ser un indicador de daño genotóxico (Tolbert, 1992).

La metodología de MN es simple y permite una apreciación rápida de las células, siendo este un procedimiento económico para implementar en gran escala, aunque puede ser solamente efectivo como un dosímetro biológico cuantitativo si son identificadas las células que se han dividido una vez después de la exposición, ya que sólo las células que se dividen pueden expresar MN (Fenech, 1993).

Para la tinción de MN se emplea el reactivo de Schiff, ya que sólo tinte DNA, de tal forma que la coloración rosada que se obtiene con éste es localizada exclusivamente en el núcleo principal y en los MN, esto se logra mediante la reacción Feulgen-Schiff, la cual está basada en la conversión ácida catalizada del DNA por hidrólisis a ácido polialdehído apurínico (APA) seguida de la tinción de esos aldehídos con el reactivo de Schiff. La intensidad de la tinción es influida por factores tales como el tipo de fijación, el procedimiento de hidrólisis, la compactación de la cromatina y la composición del reactivo de Schiff (Duijndam y Van Duijn, 1975), aunque aparentemente la hidrólisis del DNA por el HCl parece ser el paso más importante para obtener el contraste en la tinción (Tempelaar *et al.*, 1982).

Conociendo la importancia del uso de los anestésicos y en vista de que existe controversia acerca del riesgo que a nivel citogenético implica la exposición ocupacional a éstos, en el presente trabajo se realiza el monitoreo a personas en contacto con estos compuestos con el fin de verificar si existen diferencias significativas entre el grupo testigo y los expuestos del personal del quirófano mediante la aplicación de las pruebas de ICH en linfocitos de sangre periférica y la de micronúcleos en células exfoliadas de la mucosa oral y del epitelio urinario, de tal modo que si los anestésicos volátiles causan efectos citogenéticos en personas ocupacionalmente expuestas, entonces se observará un incremento en la frecuencia de intercambio de cromátidas hermanas (ICH) y/o la presencia de micronúcleos (MN) en células de descamación en mucosa oral y/o en células de descamación del epitelio urinario, asimismo se evalúan los índices de replicación y mitótico, con la finalidad de conocer el efecto de estos compuestos en la cinética de proliferación celular.

2. MATERIALES Y METODOS

El estudio se realizó con personal de la Clínica 8 del Instituto Mexicano del Seguro Social, colaborando 42 voluntarios que trabajan en el quirófano, de los cuales fueron 11 anesthesiólogos, 14 enfermeras 6 residentes de anestesiología, 2 recepcionistas, 4 circulantes, 1 secretaria, 2 camilleros, 1 de intendencia; como testigos se eligieron a 17 personas que laboran en el mismo hospital en cualquier otro lugar que no sea en la sala de operaciones ni que se encuentren en contacto con compuestos, siendo 8 médicos, 7 enfermeras y 2 de intendencia, a todos ellos se les aplicó un cuestionario para conocer su historia clínica (anexo), de donde se obtuvieron datos de sexo, edad, antigüedad, horas que laboran por día, ocupación, abortos espontáneos y exposiciones a rayos X (Tabla III).

2.1 Toma de muestras

A estos sujetos se les tomaron en el hospital 3 diferentes tipos de muestras, para lo cual se marcaron previamente los recipientes destinados a contener las muestras con un número clave, correspondiéndole un mismo número a las tres muestras de una persona, para su rápida identificación, tales muestras son:

- a) 3 ml de sangre periférica de una de las extremidades superiores con una jeringa previamente heparinizada, para la prueba de ICH.
- b) un frotis de mucosa oral, para la prueba de MN.
- c) 250 ml de orina, para la prueba de MN.

2.1.1 Intercambio de cromátidas hermanas

Se tomó una muestra sanguínea, para lo cual se requirió de una jeringa que contenía 0.5 ml de heparina, para evitar que se coagulara la muestra.

2.1.2 Micronúcleos en mucosa oral

Para el frotis de mucosa oral, la persona realizó enjuagues bucales con agua, después se le introdujo un abatelenguas para raspar la mejilla derecha, el material que se obtuvo de cada una de las mejillas, se extendió sobre un portaobjetos limpio y desengrasado a manera de frotis, se realizó el mismo procedimiento para la mejilla izquierda. Las laminillas se dejaron secar por 10 min, para agregarles unas gotas de metanol-ácido acético (3:1) frito, después se dejó evaporar el fijador.

2.1.3 Micronúcleos en epitelio urinario

La muestra de orina se tomó a diferentes horas dependiendo del horario del personal, al volumen colectado se le adicionó como fijador 10 ml de ácido acético glacial.

2.2 Tratamiento de las muestras

2.2.1 Intercambio de cromátidas hermanas

2.2.1.1 Cultivo de linfocitos

Una vez ya en el laboratorio, bajo condiciones estériles se aplicaron en un frasco 3 ml de medio (Gibco BRL RPMI Medium 1640), 0.2 ml de fitohemaglutinina (Gibco) y 8 gotas de sangre, se hizo 4 veces este procedimiento para cada muestra. A las 24 h se agregaron 100 µl de 5-bromo-2-desoxiuridina (BrdU) a una concentración de 0.0002 g/ml. Las células crecieron a 37°C durante 72 horas, una hora antes se agregó colchicina a una concentración de 0.0002 g/ml, la cual detuvo la división celular en metafase, tiempo ideal para una buena observación de los cromosomas (Husum *et al.*, 1981).

2.2.1.2 Cosecha de linfocitos

Las células fueron hipotonizadas con cloruro de potasio (75 mM) y fijadas con metanol-ácido acético (3:1) frío, para la preparación de las laminillas, se centrifugaron las muestras a 1200 rpm durante 15 min y se eliminó la mayor parte de sobrenadante (se dejó aproximadamente 1 ml).

2.2.1.3 Preparación de laminillas

Se resuspendió el botón en el sobrenadante que se conservó y se dejaron caer de 5 a 6 gotas de 20-30 cm de altura a un portaobjetos previamente congelado con metanol y libre de grasa, de este modo se hicieron varias laminillas de cada muestra, las cuales se dejaron secar al aire.

2.2.1.4 Tinción diferencial de cromátidas hermanas

Las preparaciones se colocaron en una caja de Koplín con Hoechst-33258 (1:9) durante 1 h en total oscuridad, al término se sacaron y se dejaron secar para después agregarles citrato de sodio salino (CCS) e irradiarlas con luz ultravioleta por 1 h, para excitar la fluorescencia, posteriormente se lavaron y una vez secas se pusieron en solución CCS a 60°C durante 1 h, después de dar un lavado, se dejaron secar y se tñeron con Giemsa (Merck) diluido 1/10 en agua destilada, durante 10 min, se procedió a lavar y dejar secar al aire.

2.2.1.5 Observación microscópica

Para la evaluación del ICH se revisaron 25 metafases que hayan incorporado la BrdU durante dos ciclos, por individuo, cuantificándose los intercambios terminales como un evento y los intercalares como dos.

2.2.2 Cinética de proliferación de linfocitos

2.2.2.1 Índice de Replicación

Para la determinación del índice de replicación celular se registraron 100 metafases consecutivas, anotando la cantidad de metafases de primera, segunda y tercera división y se empleó la fórmula propuesta por Krishna *et al.* (1985):

$$IR = (1(M1) + 2(M2) + 3(M3)) / 100$$

En donde: M1, M2 y M3, representan los porcentajes de metafases de 1ª, 2ª y 3ª divisiones celulares. Se consideran en M1 aquellas células cuyo DNA se replicó solo una vez después de la adición de la BrdU y todos los cromosomas tiñen obscuro, en M2 a las células cuyo DNA se duplicó dos veces en presencia de este análogo de bases y las cromátidas están uni y bifilarmente sustituidas por ésta y presentan tinción diferencial y en M3, los que muestran algunos cromosomas con ambas cromátidas bifilarmente incorporadas y otros con una unifilar y otra bifilarmente sustituida, observándose la mayoría de los cromosomas teñidos claros y pocos con tinción diferencial ya que estuvieron tres ciclos en presencia de este compuesto (Krishna *et al.*, 1985).

2.2.2.2 Índice mitótico

El índice mitótico (IM) fue determinado como el número de metafases que se encontraron en un total de 5000 células, para calcularlo se empleó la siguiente fórmula:

$$IM = M / TC$$

En donde: M es la cantidad de metafases registradas y TC es el total de células consideradas en el conteo, es decir, en este total se incluyen tanto las células en metafase como en interfase (de las células en interfase sólo se consideraron a las que la PHA estimuló).

2.2.3 Micronúcleos en epitelio urinario

2.2.3.1 Obtención de las células de descamación

La muestra de orina con el ácido acético al 100%, se centrifugó a 1500 rpm, el sobrenadante se desechó para lavar el botón con una solución salina isotónica de cloruro de sodio (0.9 %) aproximadamente 5 ml, la mezcla obtenida se agitó con suavidad, posteriormente fue centrifugada a 1000 rpm durante 10 min y se lavó con la solución isotónica dos veces más, al botón se le agregó 5 ml de una solución hipotónica de cloruro de potasio a una concentración de 75 mM, se mezcló suavemente para homogeneizar la solución y después se dejó reposar por 20 min, pasado el tiempo correspondiente se centrifugó a 1000 rpm por 10 min, nuevamente el sobrenadante fue desechado, el paquete celular se trató con 8 ml de fijador metanol-ácido acético (3:1) frío, el cual se adicionó gota a gota, se agitó bien, se repitió el paso anterior (centrifugación e incorporación) 3 veces más, se volvió a centrifugar y se añadieron 3 ml de fijador.

2.2.3.2 Preparación de laminillas

Se gotó al portaobjetos limpio desde 5 cm de altura el botón resuspendido en el sobrenadante y se dejó secar al aire.

2.2.3.3 Tinción

Para la tinción de las muestras de mucosa oral y de orina se colocaron las laminillas en cajas de Koplín con agua destilada a temperatura ambiente durante 7 min, posteriormente se introdujeron en otra caja de Koplín con ácido clorhídrico al 1 N a temperatura ambiente durante 10 min, después de este tiempo se sacaron los portaobjetos para pasarlos a otra solución de las mismas características sólo que a 60°C también por 10 min, después se pusieron 7 min en otra caja de Koplín con agua destilada para enjuagarlas, se prosiguió a acomodar las mismas en una caja de Koplín con el reactivo de Schiff (fucsina leucobásica) durante 1 h, por último se enjuagaron y se dejaron secar al aire.

2.2.3.4 Examen microscópico

El criterio para considerar a los micronúcleos fue cuantificar la estructura cromosómica con membrana propia y coloreada igual que el núcleo principal (Reali *et al.*, 1987). Se observaron 3000 células de mucosa oral, mientras que en orina, debido a que la mayoría de las muestras contenían pocas células, fue imposible registrar la cantidad establecida, por lo que se decidió contar 1500, con base en el hecho de que en las muestras que tuvieron buen paquete celular se realizaron 2 conteos, el primero de 3000 y el segundo de 1500 células, a los resultados se les aplicó la *t* de Student para compararlos y no se encontraron diferencias significativas.

Con el objeto de evitar prejuicios se reetiquetaron todas las laminillas analizadas con una misma clave para cada individuo, de tal manera que el observador no tuvo conocimiento de que individuo se estaba registrando hasta que finalizó el análisis de las tres técnicas y se descifró la clave.

2.3 Análisis estadístico

Los resultados obtenidos fueron analizados estadísticamente con la prueba de *t* de Student, para contrastar el grupo expuesto contra el testigo y de esta forma saber si existen diferencias significativas entre éstos.

3. RESULTADOS

Los datos obtenidos de los cuestionarios aplicados al personal voluntario del Hospital General de la Zona No. 8 San Angel del IMSS, tanto del quirófano (expuestos) como de las otras áreas (testigos), se presentan en la tabla III, donde se mencionan el sexo, la edad promedio, la ocupación, la antigüedad promedio, el consumo de cigarrillos por día, la ingesta de alcohol, infecciones en los últimos 6 meses, la exposición a los rayos X, abortos espontáneos en el personal femenino o en las esposas del masculino, el número de hijos en promedio, parientes cercanos enfermos de cáncer y la jornada laboral en promedio.

3.1 Intercambio de cromátidas hermanas

En la tabla IV se muestran las frecuencias de ICH tanto de las personas expuestas como de los testigos, notándose que en ambos casos los valores en cada individuo son muy semejantes y homogéneos en las dos poblaciones, al comparar los promedios mediante la prueba de *t* de Student no se encontraron diferencias significativas.

3.2 Cinética de proliferación de linfocitos

En la tabla V se observan las frecuencias de metafases de 1ª, 2ª y 3ª divisiones, así como el IR y el IM de los individuos del grupo expuesto notándose que son muy semejantes a los presentados en la tabla VI que corresponden a los de las personas del grupo testigo, al comparar los promedios mediante la prueba de χ^2 no se obtuvieron diferencias significativas (Tabla VII), además de notarse en la tablas V y VI que las frecuencias de metafases de 3ª es mayor a las de 1ª y 2ª divisiones.

3.3 Micronúcleos en células de descamación de mucosa oral

Los porcentajes de MN en células de descamación de mucosa oral de cada uno de los sujetos de los grupos expuesto y testigo se muestran en la tabla VIII donde se observa que son parecidas y homogéneas, por lo que al compararlas mediante la prueba de *t* de Student no se encontraron diferencias significativas.

En la tabla IX se presentan los porcentajes de las células binucleadas, de la condensación cromatinica, de las cariólisis, de la cariorrexia, de la picnosis y del rompimiento de huevo de cada uno de los individuos del grupo expuesto observándose que son semejantes a los que aparecen en la tabla X, que corresponden a los de las personas del grupo testigo excepto la cariólisis, ya que al comparar los promedios mediante la prueba de *t* de Student fueron los únicos con diferencias significativas (Tabla XI).

3.4 Micronúcleos en células de exfoliación del epitelio urinario

Los porcentajes de MN de células de exfoliación del epitelio urinario de los individuos de los grupos expuesto y testigo presentados en la tabla XII no se encontraron diferencias significativas al aplicar la prueba de *t* de Student.

En la tabla XIII se anotan los porcentajes de las células binucleadas, de la condensación cromatinica, de la cariólisis, de la cariorrexia, de la picnosis y del rompimiento de huevo de los sujetos del grupo expuesto y en la tabla XIV los de las personas del grupo testigo siendo diferentes, por lo que al comparar los promedios mediante la prueba de *t* de Student resultaron significativos, excepto la cariorrexia y el rompimiento de huevo (Tabla XV).

4. DISCUSION

4.1 Intercambio de cromátidas hermanas

Las pruebas de laboratorio usando cambios en el material del DNA como indicador del potencial mutagénico se han utilizado cada vez más para evaluar agentes químicos en el ambiente. Las alteraciones en el DNA pueden interferir con mecanismos de control de crecimiento celular, de tal modo que se está presentando un incremento en cáncer o malformaciones congénitas. La correlación entre mutagenicidad y carcinogenicidad es aproximadamente del 90% (Hollstein y McCann, 1979).

Cuando se realiza un monitoreo citogenético con la prueba de ICH en personas ocupacionalmente expuestas, es esencial considerar tantas variables como sea posible, ya que las frecuencias pueden ser modificadas por factores como la edad (Husum *et al.*, 1986), el hábito de fumar (Lambert *et al.*, 1978; Husum *et al.*, 1982a), aunque este punto está muy controvertido, ya que algunos autores como Husum y Wulf (1980) y Husum *et al.* (1983) reportan que no se incrementa la frecuencia de ICH en fumadores lo cual apoya lo en contrario en este trabajo donde tampoco hay diferencias significativas entre los que fuman y los que no lo hacen (Tabla III).

En la presente investigación los valores obtenidos entre el grupo del personal de la sala de operaciones y el testigo no son significativos, lo que coincide con otros estudios en personal de quirófano donde las frecuencias de ICH no son diferentes a las observadas en el grupo testigo (Husum y Wulf, 1980) no importando la antigüedad (Husum *et al.*, 1983) y en enfermeras anestesiistas analizadas antes y durante 32 meses de trabajo en el cuarto de operaciones tampoco se incrementa la frecuencia de ICH con respecto al testigo (Husum *et al.*, 1985a). En pacientes anestesiados con halotano, enflurano, fluoroxeno o isoflurano, en 50 a 60% de óxido nítrico no aumenta esta frecuencia después de la operación (Husum *et al.*, 1981; Husum *et al.*, 1985b). La frecuencia de ICH usando linfocitos de sangre periférica extraída del personal de quirófano ha revelado que no existe un efecto mutagénico en exposición a largo plazo a gases anestésicos en abundancia (Husum y Wulf, 1980), sin embargo difieren de los encontrados por Bruce *et al.* (1968, 1974) en miembros de la Sociedad Americana de Anestesiólogos durante los intervalos de 1947-66 y 1967-71, por

Corbett *et al.* (1973) en enfermeras anestesistas de Michigan, por la ASA Ad Hoc Committee en mujeres que trabajan en quirófano, por Corbett (1976) en hombres expuestos y por Doll y Peto (1977) en médicos británicos también del sexo masculino.

Debido a la controversia que existe en cuanto al potencial mutagénico que tienen los anestésicos volátiles, es importante el empleo de pruebas de detección rápida que además sean de manejo sencillo y de mucha repetibilidad, que aporten datos de interpretación fácil, que sean confiables y que permitan evaluar el peligro potencial que implica para el ser humano.

A pesar de las diferencias de metabolismo y de los mecanismos de reparación del DNA entre especies e individuos, así como de otros procesos fisiológicos, que transforman a los mutágenos químicos, la virtual universalidad del DNA como material genético, proporciona una base justificable en el uso de distintos sistemas de prueba para predecir la clastogenicidad de diversos compuestos (EPA, 1986).

Aunque todavía no se conoce totalmente el significado biológico del ICH, el hecho de que se hayan observado en las células de todos los organismos estudiados, sugiere que son un fenómeno común y fundamental en las células (Tice y Hollaender, 1984). Por otro lado, es posible que éstos sean consecuencia de un proceso que permite a la célula dividirse, aún en presencia de lesiones en su DNA; de ser así puede existir una correlación entre el fenómeno y la mutación (Carrano y Thompson, 1982), dado que las lesiones persistentes aumentarían la probabilidad de esta última en el DNA. Lo anterior tiene importancia en la formación de las células cancerosas, debido a que hay pruebas que asocian la permanencia de lesiones en el DNA con la inducción de células malignas (Margison y Kleihues, 1975).

Un problema importante en la mutagénesis provocada por agentes químicos es la serie de eventos entre el tiempo de tratamiento con un agente y la expresión final de la alteración (Beattie y Kimbrell, 1974).

Un aspecto relevante desde el punto de vista de la mutagénesis de los anestésicos, es su actividad alquilante (Poirier *et al.*, 1975). Los agentes capaces de alquilar el DNA han sido extensamente estudiados como inductores de ICH. A pesar de que no ha emergido una clara relación todavía entre la especificidad con la que reaccionan con el DNA o el tipo de

reparación desencadenada por estos compuestos y la relativa potencia con que el ICH se forma. Entre los productos celulares de reacción de estas sustancias, las alquilaciones al DNA son de gran importancia para la toxicología genética (Brendel y Ruhly, 1984).

Los estudios autorradiográficos iniciales establecen que la incorporación de la timidina tritiada en el DNA puede conducir al incremento del ICH. Experimentos subsiguientes (Perry y Evans, 1975) demuestran que éstos pueden ser inducidos con una alta eficiencia por agentes alquilantes así como por colorantes que se unen al DNA. La característica común de estos compuestos y de muchos otros agentes que elevan las frecuencias de ICH, es una acción directa o indirecta con el DNA, lo que altera su replicación o posiblemente la estructura de la cromatina (Latt *et al.*, 1981). Este tipo de agentes provoca una amplia variedad de efectos biológicos de importancia a nivel genético (Natarajan *et al.*, 1984), que va desde simples sustituciones de pares de bases en el DNA hasta cambios en el número cromosómico (Brendel y Ruhly, 1984; Schmahl, 1986; Bonatti *et al.*, 1990), incluyendo aberraciones cromosómicas (AC), ICH y muerte celular (Natarajan *et al.*, 1984).

Se considera que los "huecos" ("gaps") en el DNA resultan de errores en la replicación ("mis-replication") de la hebra patrón alquilada, y que son los causantes de las alteraciones cromosómicas, pero las lesiones específicas de alquilación que forman estos "huecos" no son bien conocidas (Schwartz, 1989). Han sido establecidos los efectos mutagénicos y carcinógenos de los agentes alquilantes mediante sus enlaces covalentes con el DNA celular (Ferguson *et al.*, 1989).

Aunque los efectos biológicos (citotoxicidad, mutagenicidad y carcinogenicidad) de los agentes alquilantes resultan de sus uniones con el DNA, tales compuestos generalmente no presentan afinidad especial de enlace (Brendel y Ruhly, 1984; Ferguson *et al.*, 1989). Su ocurrencia en el ambiente es amplia y la exposición humana a fuentes naturales y de contaminación es universal (Beranek, 1990).

Los agentes alquilantes son mutagénicos y carcinogénicos en una gran variedad de organismos (Beranek, 1990), provocan un amplio espectro de alteraciones en las células expuestas, incluyendo alquilaciones en sitios específicos del DNA (Lawley y Thatcher, 1970; Beranek *et al.*, 1980).

Ha sido establecida la correlación entre estas alquilaciones específicas y diferentes marcadores biológicos, su acción mutagénica (Vogel y Natarajan, 1979, 1982), la estabilidad de los aductos DNA-grupo alquilo (Den Engelse *et al.*, 1986) y su reparación *in vitro* e *in vivo* (Saffhill *et al.*, 1985; Singer, 1985). También son utilizados en estudios de dosimetría, determinando aductos en la hemoglobina para predecir riesgo mutagénico (Osterman-Golkar *et al.*, 1976; Tannenbaum y Skipper, 1984; Perera 1988), pero aquellas lesiones involucradas en la producción de alteraciones cromosómicas, han sido ambiguamente identificadas (Connell y Medcalf, 1982; Bonatti y Abbondandolo, 1989) y se conoce poco sobre los mecanismos que causan esta clase de efectos (Bonatti *et al.*, 1990).

Se han descrito diferentes tipos de daño inducidos en el DNA dependiendo del agente mutagénico empleado (Darroudi *et al.*, 1989). Los alquilantes reaccionan con una variedad de sitios nucleofílicos en el DNA y en las proteínas formando diversas clases de aductos (Natarajan *et al.*, 1984).

La principal lesión alquilante que se conoce que impide la duplicación es el aducto 3-metil adenina (Larsson *et al.*, 1985). Es así probable que al menos una proporción de las rupturas del DNA sean los huecos dejados por una replicación incompleta debido a la incapacidad para proseguir al paso de 3-metil adenina *in vitro*. Es posible que existan endonucleasas que puedan actuar en los sitios de alquilación para causar rupturas en la hebra hija (Schwartz, 1989).

Asimismo se pueden esperar rupturas de doble hebra en el caso de que se produzcan "huecos" opuestos a los sitios apurínicos. Schwartz (1989), encuentra que este tipo de alteraciones, no es una lesión importante involucrada en la ruptura del DNA dependiente de la fase S para la N-metil-N-nitro-N-nitrosoguanidina (MNNG) y el metil metano sulfonato (MMS).

Otra alteración inducida por los agentes alquilantes es la lesión O⁶-metil guanina. El mecanismo por el cual ésta es letal y genotóxica se desconoce. El aducto no bloquea la síntesis de DNA, de tal forma que no genera de manera directa algún "hueco" (Larsson *et al.*, 1985).

Errores en la reparación pueden remover la base que incorrectamente ha sido recién incorporada, opuesta a la alteración, produciendo una ruptura en la hebra del DNA. Si esta no es reparada, posiblemente persiste y provoca alteraciones y letalidad (Bonnatti *et al.*, 1985), aunque no existen evidencias directas que apoyen esta hipótesis (Schwartz 1989, Bonatti *et al.*, 1990).

La remoción enzimática del daño inducido por alquilación en células vivas se realiza principalmente a 3 niveles: (1) des- o trans-alkilación del grupo alquilo por la enzima de reparación; (2) la remoción de la base modificada por una glucosilasa (específica dejando un sitioapurínico o apirimídico y bases alquiladas libres, seguida por inserción de purinas/pirimidinas o rompimientos por endonucleasas AP y (3) escisión de nucleótido en la liberación de una cadena de nucleótidos conteniendo el sitio dañado (Brendel y Ruhly, 1984). Los dos últimos, de acuerdo con Beranek (1990), pueden agruparse como procesos de reparación por escisión. Asimismo, los datos de alquilación obtenidos de varias etapas de desarrollo, indican que la formación de aductos es dependiente del estado del ciclo celular al momento del tratamiento y que los niveles de aducción pueden reflejar la capacidad de reparación del período en particular estudiado (Beranek, 1990).

Con base en esta información de la relación alquilante-ICH se espera que en el grupo expuesto se incremente la frecuencia de ICH, sin embargo no se registra tal incremento, a pesar de la actividad alquilante del halotano, el isoflorano y el enflorano, lo cual puede deberse a que la dosis a la cual está sometido el personal de quirófano es inferior a la que se requiere para causar daño en el DNA.

4.2 Cinética de proliferación de linfocitos

La proliferación celular constituye un criterio para evaluar el daño fisiológico que provocan los diversos agentes. Se ha demostrado que tanto las radiaciones (Davidson, 1959; Haber y Foard, 1964; Burholt y Van't Hoff, 1972), como algunas sustancias tales como los nucleósidos de adenina, la azaserina, el bromuro de etidio y la cicloheximida entre otras (Kihlman, 1966; Bruchovsky, 1967; Kovacs y Van't Hoff, 1971; Webster 1973, Mc Gill *et al.*, 1974), producen inhibición de la división celular.

En el presente trabajo no se encuentran diferencias significativas entre el IR del grupo expuesto y del testigo, así que el halotano, el isoflorano y el enflorano no modifican el ciclo celular, aunque se observa que el ciclo celular se acelera tanto en el grupo expuesto como en el testigo, lo cual sugiere que estas personas están expuestas a algún (s) agente (s) que está influyendo en la cinética de proliferación celular que pudiera ser el mismo para los dos grupos, aunque esto es sólo una suposición.

6.3 Micronúcleos

En los estudios ocupacionales es conveniente emplear más de un criterio para la evaluación del daño a nivel citogenético por ello resulta importante el análisis de micronúcleos en células exfoliadas de los epitelios bucal y urinario, ya que como se menciona anteriormente, estos MN son el resultado del daño al DNA de las células por mutágenos. Durante la mitosis, los fragmentos cromosómicos (efecto clastogénico) o cromosomas enteros (efecto aneugénico) no se encuentran enlazados con el huso, así que son excluidos del núcleo principal en las células hijas (Lehucher-Michel *et al.*, 1996).

Tanto las células exfoliadas orales como las exfoliadas uroteliales pueden ser colectadas mediante procedimientos no invasivos además de usarlas como blancos para identificar efectos aneugénicos o clastogénicos de agentes químicos (Lehucher-Michel *et al.*, 1996).

Cuando se realiza un estudio de este tipo deben considerarse al igual que para ICH, la mayor cantidad de condiciones posibles a las que está expuesto el donador, ya que por ejemplo: el efecto de la edad y el sexo en células micronucleadas resultan no ser significantes en este estudio, lo cual es consistente con publicaciones previas realizadas en células uroteliales (Reali *et al.*, 1987; Lehucher-Michel, 1995); en linfocitos binucleados, el sexo no tiene efecto en los niveles de MN (Fenech y Morley, 1985a; Di Giorgio *et al.*, 1994), asimismo la edad tampoco influye en la mayoría de los estudios (Fenech y Morley, 1985b; Yager, 1990), aunque algunos autores detectan un incremento de células micronucleadas correlacionadas con la edad (Heddle, 1990). La infección provocada por *Schistosoma haematobium* se ha reportado que induce MN en células exfoliadas uroteliales, sugiriendo que las reacciones inflamatorias pueden estar implicadas en la formación de MN (Rosin *et*

et al., 1994). Además de susceptibilidades individuales debidas a variaciones en la actividad metabólica (Remmer, 1987) y en la eficiencia en la reparación del DNA, se han presentado diferencias interindividuales en la inducción de MN en exposiciones *in vitro* (Huber *et al.*, 1989; Wiencke *et al.*, 1991), por otro lado Ingel' (1993) encuentra que la combinación del estrés físico-emocional y los parámetros de estrés clásico también inducen MN.

Aunque el ensayo de micronúcleos en linfocitos binucleados ha sido ampliamente aplicado en personas ocupacionalmente expuestas a distintos agentes (Barregard *et al.*, 1991; Maki-Paakkanen *et al.*, 1991; Bolognesi *et al.*, 1993), pocos resultados con células exfoliadas uroteliales han sido descritos, esto se puede deber a los problemas relacionados con la escasa cantidad de estas células y a las dificultades en identificar micronúcleos, ya que es frecuente, que las muestras de orina contengan pocas células especialmente en las de hombres, además de que la diaria exfoliación de éste varía grandemente en cada individuo, de tal forma que es común coleccionar cantidades de células menores al óptimo para el análisis de micronúcleos, también, debido a que la orina no es isotónica, las células degeneran con rapidez si no son tratadas inmediatamente (Lehucher-Michel, 1996).

Por lo cual la prueba requiere de modificaciones para adaptar la metodología del tejido blanco, evaluar factores de variación interindividuales de poblaciones expuestas y validar este ensayo como un análisis intermedio en el monitoreo del riesgo de cáncer. Además de necesitarse estudios que midan la cinética de micronúcleos en tejidos uroteliales, después de la exposición al agente genotóxico (Lehucher-Michel, 1996).

La figura 5 ilustra algunas de las vías que son postuladas como productoras de cuerpos con DNA-extranuclear, donde se evidencia que, solamente a partir del daño cromosómico o por interferencia mitótica se forman micronúcleos por los mecanismos clásicos. Los otros procesos que pueden incrementar figuras difíciles de distinguir de MN son importantes, por reflejar eventos relevantes en la carcinogénesis. Por ejemplo, la citotoxicidad puede parecer una vía de estimulación de promoción de cáncer. La genotoxicidad inducida por apoptosis puede ser importante como un marcador de respuesta a eventos de iniciación de cáncer. Aunque este fenómeno puede ser relacionado con la carcinogénesis (Tolbert *et al.*, 1992).

La condensación cromatinica, la kariolisis, la pycnosis y la kariorrhexis son significativas con la exposición ocupacional al halotano, isoflorano y enflorano, lo cual según Wyllie (1981) sugiere que el epitelio del que proceden las células sufre necrosis, una forma de muerte celular que ocurre después del daño por agentes que causan fuertes perturbaciones en el ambiente celular, aunque para comprobarlo y para conocer el grado de necrosis se necesitaría tomar una biopsia de cada uno de los individuos expuestos, además según Tolbert (1992) esto puede estar relacionado con la citotoxicidad lo que parecería una vía de estimulación de promoción de cáncer.

5 CONCLUSIONES

Del presente trabajo se puede concluir lo siguiente:

•Con la prueba de ICH se observa que el halotano, el isoflorano y el enflorano no causan efecto en el DNA, ya que no se encuentran diferencias significativas entre el grupo del personal del quirófano y el de personas que no están en contacto con los anestésicos.

•Al no hallarse diferencias significativas en el IR entre el grupo del personal del cuarto de operaciones y el personal ajeno a los anestésicos, esto refleja que el halotano, el isoflorano y el enflorano no tienen efecto sobre la cinética de proliferación celular

•No hubo diferencias significativas en el índice mitótico entre el grupo del personal de la sala de operaciones y el testigo, por lo que se establece que no causan daño el halotano, el isoflorano y el enflorano en la cinética de proliferación de los linfocitos.

•Tanto en células de exfoliación de la mucosa oral como del epitelio urinario no se evidencian diferencias significativas en la producción de MN entre el grupo expuesto al halotano, al isoflorano y al enflorano y el grupo testigo

•La frecuencia de células binucleadas en el epitelio urinario se incrementa significativamente en el grupo expuesto

•Al incrementarse significativamente las diferencias entre el grupo expuesto y el testigo en la condensación cromatinica, la kariolisis, la picnosis y la kariorexis de las células de exfoliación del epitelio urinario sugiere que aumenta la necrosis del epitelio.

•Debido a que el halotano, el isoflorano y el enflorano no causan daño en las células de descamación de la mucosa oral, pero si en las células de exfoliación en el epitelio urinario, se puede suponer que el agente agresor es un metabolito de los anestésicos, ya que en las primeras el anestésico aún no se ha metabolizado y esto si ha sucedido en las segundas.

«Los resultados obtenidos mediante las pruebas de ICH y MN de la mucosa oral y del epitelio urinario en esta investigación son negativos, sin embargo es importante seguir estudiando los efectos de los anestésicos debido a la controversia que existe, sobre su posible potencial mutagénico en personas ocupacionalmente expuestas.

6 TABLAS

Tabla I. PROPIEDADES FISICOQUIMICAS DE ALGUNOS ANESTESICOS¹

Nombre	Fórmula	Punto de ebullición °C	Presión de vapor a 20°C	Coefficiente de partición	Acteo/gas (coeficiente de partición)	Agua/gas (volumen)	MAC para anestesia (%)
<i>GASES</i>							
Ciclopropano	C_3H_6	42.1	-33	-----	11.2	0.22	9.2
Oxido nitroso	N_2O	44	-88.5	-----	1.4	0.44	101
Etileno	C_2H_4	28	-103	-----	1.28	0.08	80
<i>LIQUIDOS VOLATILES</i>							
Eter dietílico	$(C_2H_5)_2O$	74.1	36.5	425	50.2	13	1.92
Cloroformo	$CHCl_3$	119.4	61	160	265	3.9	0.64
Halotano	$CF_3CHClBr$	197.4	50	243	224	0.86	0.76
Eter divinílico	$(C_2H_5)_2O$	70.1	28.3	553	58	1.45	4
Tricloroetileno	C_2HCl_3	131.4	87.5	60	720	1.51	0.17
Fluroxeno	$CF_3CH_2-O-C_2H_5$	126	42	286	56.8	0.92	3.4
Metoxiflurano	$CHCl_2CF_2-O-CH_3$	165	104.8	23	930	3.5	0.16
Enflurano	C_2-O-CF_2	184.5	56.5	180	98.5	0.73	1.68
Isoflurano	$CF_3CHCl-O-CF_2H$	184.5	58.5	250	94	0.7	1.15

¹Tomada de Baden y Simmon (1980)

¹ MAC es la concentración alveolar mínima requerida para prevenir la actividad reflejo en el 50% de los pacientes sujetos a estímulos nocivos

TABLA II. FORMULAS ESTRUCTURALES DE VARIOS CARCINOGENOS HUMANOS Y DE AGENTES ANESTESICOS INHALANTES *

Carcinógenos	Anestésicos inhalantes
$ \begin{array}{c} \text{H} \\ \\ \text{H}-\text{C}-\text{I} \\ \\ \text{H} \end{array} $ Metil ioduro	$\begin{array}{c} \text{Cl} \\ \\ \text{H}-\text{C}-\text{Cl} \\ \\ \text{Cl} \end{array}$ Cloroformo $\begin{array}{c} \text{F} \quad \text{Cl} \\ \quad \\ \text{F}-\text{C}-\text{C}-\text{H} \\ \quad \\ \text{F} \quad \text{Br} \end{array}$ Halotano (fluorotano)
$ \begin{array}{c} \text{H} \quad \text{Cl} \quad \text{Cl} \quad \text{H} \\ \quad \quad \quad \\ \text{H}-\text{C}-\text{C}-\text{O}-\text{C}-\text{C}-\text{H} \\ \quad \quad \quad \\ \text{H} \quad \text{H} \quad \text{H} \quad \text{H} \end{array} $ Bis (α-cloroetil)éter	$ \begin{array}{c} \text{F} \quad \text{Cl} \quad \text{F} \\ \quad \quad \\ \text{F}-\text{C}-\text{C}-\text{O}-\text{C}-\text{H} \\ \quad \quad \\ \text{F} \quad \text{H} \quad \text{F} \end{array} $ Isofluorano (forano)
$ \begin{array}{c} \text{Cl} \quad \text{Cl} \\ \quad \\ \text{H}-\text{C}-\text{O}-\text{C}-\text{H} \\ \quad \\ \text{H} \quad \text{H} \end{array} $ Clorometil metil éter	$ \begin{array}{c} \text{Cl} \quad \text{F} \quad \text{H} \\ \quad \quad \\ \text{H}-\text{C}-\text{C}-\text{O}-\text{C}-\text{H} \\ \quad \quad \\ \text{Cl} \quad \text{F} \quad \text{F} \end{array} $ Enfluorano (etrano)
$ \begin{array}{c} \text{H} \quad \text{H} \\ \backslash \quad / \\ \text{C}=\text{C} \\ / \quad \backslash \\ \text{H} \quad \text{H} \end{array} $ Cloruro de vinilo	$ \begin{array}{c} \text{Cl} \quad \text{Cl} \\ \backslash \quad / \\ \text{C}=\text{C} \\ / \quad \backslash \\ \text{H} \quad \text{Cl} \end{array} $ Tricloroetileno

*Tomada de Baden y Simmon (1980)

TABLA III. DATOS OBTENIDOS DEL CUESTIONARIO APLICADO AL PERSONAL DEL HOSPITAL GENERAL DE ZONA No. 8 SAN ANGEL DEL IMSS

		TESTIGOS	EXPUESTOS
SEXO	HOMBRES	1	15
	MUJERES	10	27
EDAD ($\bar{X}$, años)		37.85	35.85
OCUPACIÓN	SECRETARIA	0	1
	ANESTESIOLOGO	0	11
	ENFERMERA	6	13
	RESIDENTE	0	8
	ASISTENTE MEDICO	1	0
	MEDICO	3	0
	CAMILLERO	0	2
	INTENDENTE	1	1
	CIRCULANTE	0	4
	REPARTIDOR	0	1
	RECEPCIONISTA	0	1
ANTIGÜEDAD ($\bar{X}$, años)		13.82	9.90
CONSUMO DE	NO	10	33
CIGARROS	<10	1	8
POR DIA	>10	0	1
INGESTA DE	NO	9	16
ALCOHOL	OCASIONALMENTE	2	25
	FRECÜENTEMENTE	0	1
INFECCIONES EN LOS		2	14
ÚLTIMOS 6 MESES			
RAYOS X EN LOS		5	17
ÚLTIMOS 2 MESES			
ABORTOS		0	3
ESPONTANEOS			
NÚMERO DE HIJOS		2	1.38
PARIENTES		2	17
ENFERMOS DE			
CANCER			
JORNADA LABORAL		7.91	7.70
(h)			

Tabla IV. FRECUENCIA DE ICH EN LOS GRUPOS EXPUESTO Y TESTIGO

INDIVIDUO	ICH/célula EXPUESTO $\bar{X} \pm E.E.$	ICH/célula TESTIGO $\bar{X} \pm E.E.$
1	4.52 $\pm$ 0.448	2.96 $\pm$ 0.438
2	4.08 $\pm$ 0.523	3.64 $\pm$ 0.529
3	3.92 $\pm$ 0.565	4.32 $\pm$ 0.468
4	3.76 $\pm$ 0.448	3.60 $\pm$ 0.432
5	3.80 $\pm$ 0.316	5.48 $\pm$ 0.751
6	4.44 $\pm$ 0.351	3.92 $\pm$ 0.360
7	5.44 $\pm$ 0.617	4.04 $\pm$ 0.349
8	4.84 $\pm$ 0.532	5.08 $\pm$ 0.458
9	5.32 $\pm$ 0.489	5.36 $\pm$ 0.452
10	4.44 $\pm$ 0.356	4.88 $\pm$ 0.422
11	4.28 $\pm$ 0.334	5.28 $\pm$ 0.880
12	6.28 $\pm$ 0.555	3.44 $\pm$ 0.452
13	3.36 $\pm$ 0.270	3.23 $\pm$ 0.751
14	3.64 $\pm$ 0.346	3.79 $\pm$ 0.349
15	5.76 $\pm$ 0.477	5.16 $\pm$ 0.570
16	3.52 $\pm$ 0.429	3.92 $\pm$ 0.510
17	6.04 $\pm$ 0.679	4.24 $\pm$ 0.452
18	5.08 $\pm$ 0.522	
19	3.76 $\pm$ 0.322	
20	3.76 $\pm$ 0.322	
21	4.40 $\pm$ 0.355	
22	4.92 $\pm$ 0.469	
23	4.12 $\pm$ 0.494	
24	4.88 $\pm$ 0.460	
25	4.72 $\pm$ 0.540	
26	4.00 $\pm$ 0.529	
27	3.64 $\pm$ 0.345	
28	4.60 $\pm$ 0.526	
29	4.24 $\pm$ 0.542	
30	4.76 $\pm$ 0.526	
31	5.76 $\pm$ 0.477	
32	4.92 $\pm$ 0.428	
33	3.80 $\pm$ 0.458	
34	3.96 $\pm$ 0.398	
35	3.68 $\pm$ 0.468	
36	2.96 $\pm$ 0.291	
37	3.44 $\pm$ 0.436	
38	3.88 $\pm$ 0.504	
39	3.68 $\pm$ 0.446	
40	3.08 $\pm$ 0.404	
41	3.16 $\pm$ 0.386	
42	4.04 $\pm$ 0.385	
PROMEDIO $\pm$ E. E.	4.16 $\pm$ 0.140	4.26 $\pm$ 0.195
D. E.	0.909	0.804
t de Student		0.3837
P		>0.05*

* No significativo

Tabla V. FRECUENCIAS DE METAFASES (M) DE 1ª, 2ª Y 3ª DIVISIONES. INDICE DE REPLICACION (IR) E INDICE MITOTICO (IM) EN EL GRUPO EXPUESTO

Individuos	M 1ª	M 2ª	M 3ª	IR	IM
1	16	23	61	2.45	0.0382
2	34	37	29	1.95	0.0286
3	13	15	72	2.59	0.0434
4	14	26	60	2.46	0.0200
5	22	40	38	2.16	0.0584
6	7	24	69	2.62	0.1636
7	33	47	20	1.87	0.0564
8	24	38	38	2.14	0.0580
9	18	26	56	2.38	0.0786
10	45	36	19	1.74	0.0622
11	4	33	63	2.59	0.0630
12	17	37	45	2.26	0.0820
13	10	50	40	2.30	0.0360
14	39	49	12	1.73	0.0624
15	8	10	82	2.74	0.0730
16	4	18	78	2.74	0.0800
17	10	13	77	2.67	0.0780
18	38	41	21	1.83	0.1914
19	10	25	65	2.55	0.1598
20	8	23	69	2.61	0.1006
21	3	31	66	2.63	0.0636
22	1	9	90	2.89	0.1042
23	0	9	91	2.91	0.1126
24	5	20	75	2.70	0.0586
25	6	22	72	2.66	0.1116
26	3	27	70	2.67	0.1428
27	6	22	72	2.66	0.0618
28	11	48	41	2.30	0.0356
29	6	21	73	2.67	0.0474
30	1	14	85	2.84	0.0998
31	1	25	74	2.73	0.0784
32	3	26	70	2.65	0.0790
33	11	29	61	2.52	0.0578
34	2	20	77	2.73	0.0316
35	26	30	44	2.18	0.0510
36	65	32	3	1.38	0.0288
37	18	36	45	2.25	0.0616
38	2	19	78	2.74	0.0322
39	2	18	79	2.75	0.0316
40	3	15	82	2.79	0.0630
41	9	26	65	2.56	0.0654
42	8	9	83	2.75	0.0916
PROMEDIO ± E.E	13.48 ± 2.183	26.64 ± 1.732	59.76 ± 3.477	2.46 ± 0.055	0.0900 ± 0.020

Tabla VI. FRECUENCIAS DE METAFASES (M) DE 1ª, 2ª Y 3ª DIVISIONES. INDICE DE REPLICACION (IR) E INDICE MITOTICO (IM) DEL GRUPO TESTIGO

Individuos	M 1ª	M 2ª	M 3ª	IR	IM
1	39	39	48	2.38	0.0410
2	25	25	78	2.91	0.0648
3	3	27	70	2.67	0.1376
4	37	37	57	2.51	0.0710
5	12	12	76	2.64	0.1566
6	19	19	77	2.73	0.0428
7	19	19	81	2.81	0.0628
8	15	15	83	2.81	0.0550
9	30	30	58	2.46	0.0270
10	15	15	83	2.81	0.0994
11	11	26	63	2.52	0.1476
12	33	44	23	1.90	0.0580
13	25	50	25	2.00	0.0550
14	28	49	23	1.95	0.0270
15	20	55	25	2.10	0.1443
16	19	47	34	2.15	0.0550
17	23	54	23	2.00	0.1376
PROMEDIO ± E.E.	13.12 ± 2.696	33.12 ± 3.430	54.53 ± 6.020	2.43 ± 0.090	0.08 ± 0.011

Tabla VII. PROMEDIO, ERROR ESTANDAR (E. E.), DESVIACION ESTANDAR (D. E.) Y χ^2 DE LAS FRECUENCIAS DE METAFASES (M) DE 1ª, 2ª Y 3ª DIVISIONES. INDICE DE REPLICACION (IR) E INDICE MITOTICO (IM) EN LOS GRUPOS EXPUESTO (E) (Tabla V) Y TESTIGO (T) (Tabla VI).

	M1ª E	M1ª T	M2ª E	M2ª T	M3ª E	M3ª T	IR E	IR T	IM E	IM T
PROMEDIO	13.480	13.120	26.640	33.120	59.760	54.530	2.460	2.430	0.090	0.080
E. E.	2.183	2.696	1.732	3.430	3.477	6.020	0.055	0.090	0.020	0.011
D. E.	14.148	10.142	11.222	14.743	22.532	24.184	0.398	0.348	0.133	0.045
χ^2	1.06						1.16		1.28	
P	>0.05*						>0.05*		>0.05*	

*No significativo

Tabla VII. PORCENTAJE DE LA FRECUENCIA DE MICRONUCLEOS (MN) EN CELULAS DE EXFOLIACION DEL MUCOSA ORAL DE LOS GRUPO EXPUERTO Y TESTIGO.

INDIVIDUOS	% MN EXPUESTO	% MN TESTIGO
1	0.000	0.000
2	0.000	0.033
3	0.033	0.033
4	0.000	0.000
5	0.000	0.000
6	0.100	0.000
7	0.000	0.000
8	0.000	0.200
9	0.033	0.000
10	0.033	0.000
11	0.000	0.000
12	0.000	0.000
13	0.000	0.000
14	0.067	0.000
15	0.000	0.200
16	0.000	0.033
17	0.133	0.000
18	0.000	
19	0.083	
20	0.100	
21	0.000	
22	0.000	
23	0.000	
24	0.000	
25	0.000	
26	0.033	
27	0.033	
28	0.000	
29	0.000	
30	0.000	
31	0.000	
32	0.000	
33	0.033	
34	0.000	
35	0.000	
36	0.567	
37	0.000	
38	0.000	
39	0.033	
40	0.000	
41	0.033	
42	0.000	
PROMEDIO	0.031	0.029
D. E.	0.091	0.065
E. E.	0.014	0.015
t de Student		0.091
P		>0.05*

*No significativo

Tabla IX. PORCENTAJE DE LAS FRECUENCIAS DE ANORMALIDADES NUCLEARES EN CELULAS DE EXFOLIACION DE MUCOSA ORAL EN EL GRUPO EXPUESTO.

Individuo	Binucleados	Condensación cromatinica	Carionolisis	Cariorrexis	Picnosis	Rompimiento de hueso
1	0.033	0.567	2.200	0.033	0.033	0.000
2	0.033	0.867	1.100	0.000	0.167	0.000
3	0.000	1.667	0.700	0.000	0.133	0.000
4	0.133	3.200	4.000	0.000	0.233	0.033
5	0.067	1.333	1.333	0.033	0.100	0.000
6	0.367	1.233	1.967	0.033	0.667	0.000
7	0.267	2.200	2.500	0.000	0.100	0.000
8	0.200	53.800	6.433	0.000	0.233	0.000
9	0.100	2.133	3.300	0.000	0.133	0.000
10	0.367	0.867	6.000	0.000	0.167	0.033
11	0.067	0.800	6.567	0.000	0.167	0.000
12	0.167	1.500	6.600	0.000	0.067	0.000
13	0.067	0.500	8.900	0.000	0.167	0.000
14	0.267	0.633	0.633	0.000	0.067	0.000
15	0.100	5.300	0.077	0.000	0.133	0.000
16	0.200	2.667	1.733	0.033	0.367	0.000
17	0.133	2.267	1.233	0.000	0.400	0.000
18	0.000	2.700	2.100	0.000	0.000	0.000
19	0.000	54.150	10.95	0.000	1.100	0.000
20	0.167	14.238	48.911	0.000	0.000	0.000
21	0.433	0.333	1.100	0.000	0.333	0.033
22	0.367	1.667	1.000	0.000	0.067	0.000
23	0.000	0.500	7.833	0.000	0.167	0.000
24	0.233	0.100	1.700	0.000	0.100	0.000
25	0.400	0.100	1.767	0.000	0.067	0.000
26	0.267	4.400	1.700	0.000	0.167	0.000
27	0.400	3.833	2.633	0.000	0.167	0.033
28	0.000	2.155	38.627	0.033	0.057	0.000
29	0.233	3.767	3.100	0.000	0.267	0.000
30	0.100	3.700	6.767	0.033	0.267	0.000
31	0.167	3.233	4.367	0.000	0.133	0.000
32	0.067	6.933	3.433	0.000	0.067	0.000
33	0.067	3.533	6.233	0.000	0.367	0.000
34	0.200	75.200	7.067	0.033	0.800	0.000
35	0.100	1.267	1.100	0.000	0.033	0.000
36	0.033	0.333	1.567	0.000	0.000	0.000
37	0.100	10.467	2.200	0.000	0.033	0.000
38	0.100	2.167	1.300	0.033	0.067	0.000
39	0.233	0.300	5.967	0.000	0.067	0.000
40	0.100	1.067	0.367	0.000	0.067	0.000
41	0.000	1.667	0.700	0.000	0.133	0.000
42	0.133	3.200	4.000	0.000	0.233	0.033
PROMEDIO	0.154	6.727	5.278	0.006	0.193	0.004

Tabla X. PORCENTAJE DE LAS FRECUENCIAS DE ANORMALIDADES NUCLEARES EN CELULAS DE EXFOLIACION DE MUCOSA ORAL EN EL GRUPO TESTIGO

Individuo	Birucleadas	Condensación cromatinica	Caríolisis	Cariorrexis	Picnosis	Rompimiento de hueso
1	0.033	0.667	5.300	0.000	0.267	0.000
2	0.033	4.033	4.300	0.000	0.400	0.000
3	0.133	0.900	1.500	0.000	0.200	0.000
4	0.000	3.000	0.667	0.033	4.700	0.000
5	0.167	3.263	3.667	0.000	1.433	0.000
6	0.267	1.900	6.467	0.000	0.167	0.000
7	0.133	3.800	2.333	0.033	0.167	0.000
8	0.300	0.967	1.333	0.000	0.300	0.000
9	0.000	3.000	0.667	0.000	0.033	0.000
10	0.000	3.800	2.333	0.000	0.167	0.000
11	0.000	0.500	1.000	0.003	0.100	0.000
12	0.000	0.967	0.667	0.033	0.200	0.000
13	0.033	3.000	1.000	0.000	0.020	0.033
14	0.000	1.900	2.333	0.000	0.167	0.000
15	0.300	0.967	0.667	0.000	0.003	0.000
16	0.133	0.500	1.333	0.000	0.100	0.000
17	0.167	3.000	2.333	0.000	0.020	0.000
PROMEDIO	0.100	2.127	2.229	0.200	0.491	0.0020

Tabla XI. PROMEDIO, ERROR ESTANDAR (E. E.), DESVIACION ESTANDAR (D. E.), Y *t* de Student DE LOS PORCENTAJES DE LAS FRECUENCIAS DE ANORMALIDADES NUCLEARES EN CELULAS DE EXFOLIACION DE MUCOSA ORAL EN LOS GRUPOS EXPUESTO (E) (Tabla IX) Y TESTIGO (T) (Tabla X).

	Birucleadas		Condensación cromatinica		Caríolisis		Cariorrexis		Picnosis		Rompimiento de hueso	
	E	T	E	T	E	T	E	T	E	T	E	T
PROMEDIO	0.154	0.100	6.727	2.127	5.278	2.229	0.006	0.200	0.193	0.491	0.004	0.002
E. E.	0.019	0.027	2.426	0.313	1.415	0.423	0.002	0.194	0.033	0.275	0.002	0.002
D. E.	0.125	0.110	15.720	1.290	9.170	1.745	0.013	0.799	0.217	1.133	0.011	0.008
<i>t</i> de Student	1.640		1.881		2.064		1.000		1.077		0.776	
P	>0.05		>0.05		<0.05*		>0.05		>0.05		>0.05	

*Diferencias significativas

Tabla XII. PORCENTAJE DE FRECUENCIAS DE MICRONUCLEOS (MN) EN CELULAS DE DESCAMACION DEL EPITELIO URINARIO DE LOS GRUPOS EXPUESTO Y TESTIGO.

INDIVIDUO	% MN EXPUESTO	% MN TESTIGO
1	0.267	0.000
2	0.069	1.667
3	0.267	0.000
4	0.333	0.000
5	0.800	0.000
6	0.400	0.000
7	0.100	0.000
8	0.067	0.000
9	0.063	0.000
10	0.067	0.000
11	0.000	0.133
12	1.300	0.000
13	2.667	0.800
14	0.693	0.033
15	1.363	1.333
16	0.000	0.333
17	0.000	0.000
18	0.000	
19	0.000	
20	0.000	
21	0.133	
22	0.133	
23	0.067	
24	0.467	
25	0.000	
26	0.600	
27	2.667	
28	0.800	
29	1.300	
30	2.667	
31	1.363	
32	1.667	
33	0.067	
34	0.133	
35	0.267	
36	2.667	
37	0.693	
38	1.363	
39	1.667	
40	0.000	
41	0.000	
42	1.363	
PROMEDIOS	1.034	0.253
D. E.	2.606	0.515
E. E.	0.402	0.125
t de Student		1.856
P		>0.05*

*No significativo

Tabla XIII. PORCENTAJE DE FRECUENCIAS DE ANORMALIDADES NUCLEARES EN CELULAS DE DESCAMACION EN EPITELIO URBANARIO DEL GRUPO EXISTENTE.

Individuos	Bromodina	Comestencia cromosomica	Carotina	Carotenois	Picnato	Resumen de furo
1	0.000	11.333	33.333	0.000	5.533	0.000
2	0.205	33.219	41.318	0.206	3.981	0.000
3	0.267	1.200	9.733	0.000	0.333	0.000
4	0.133	55.600	16.200	0.134	2.333	0.000
5	0.200	16.333	5.733	0.067	6.533	0.067
6	0.000	0.000	16.000	0.200	20.933	0.000
7	0.000	5.733	6.533	0.000	4.533	0.000
8	0.000	13.133	60.000	0.000	3.733	0.000
9	0.063	19.533	25.834	0.000	7.120	0.000
10	0.200	2.367	3.767	0.000	1.800	0.000
11	0.833	9.600	3.033	0.033	1.733	0.000
12	8.000	41.600	7.000	0.000	0.300	0.000
13	16.467	30.400	15.533	0.667	3.533	0.067
14	0.099	12.970	15.841	0.199	3.267	0.000
15	0.818	12.363	28.727	0.273	11.636	0.000
16	0.000	0.000	48.387	0.000	6.452	0.000
17	0.000	15.432	17.592	0.000	5.556	0.000
18	0.000	20.741	27.130	0.000	14.352	0.000
19	0.067	36.067	15.867	0.000	46.667	0.000
20	0.000	16.867	1.867	0.000	49.667	0.000
21	1.867	25.600	8.467	0.000	5.333	0.000
22	0.000	52.533	3.333	0.067	3.533	0.000
23	0.000	39.533	8.800	0.000	3.000	0.000
24	0.200	52.667	14.867	0.000	4.000	0.000
25	0.467	6.933	20.333	0.000	4.667	0.000
26	0.000	20.600	20.067	0.000	7.533	0.000
27	16.467	30.400	15.533	0.199	3.533	0.067
28	0.200	16.333	5.733	0.091	6.533	0.033
29	0.800	41.600	7.000	0.033	3.000	0.000
30	16.467	30.400	15.533	0.333	3.533	0.000
31	0.818	12.363	28.727	0.000	11.636	0.000
32	0.000	24.600	10.333	0.000	19.800	0.033
33	2.000	2.367	3.767	0.033	1.800	0.000
34	1.867	25.600	8.467	0.000	5.333	0.000
35	0.000	11.333	33.333	0.182	5.533	0.000
36	16.467	30.400	15.533	0.000	3.533	0.000
37	0.099	12.970	15.841	0.033	3.267	0.000
38	0.818	12.363	28.727	0.000	11.636	0.000
39	0.000	24.600	10.333	0.000	19.800	0.000
40	0.000	16.867	1.867	0.091	49.667	0.000
41	0.000	20.741	27.130	0.000	14.352	0.000
42	0.818	12.363	28.727	0.000	11.636	0.000
PROMEDIO	2.064	20.897	17.511	0.022	9.591	0.006

Tabla XIV. PORCENTAJE DE FRECUENCIAS DE ANORMALIDADES NUCLEARES EN CELULAS DE DESCAMACION EN EPITELIO URINARIO DEL GRUPO TESTIGO.

Individuos	Binucleadas	Condensacion cromatinica	Carionolisis	Carionorexis	Picnosis	Rompimiento de hueso
1	0.000	0.533	3.333	0.000	0.067	0.000
2	0.000	24.600	10.333	0.133	19.800	0.067
3	0.000	0.333	0.000	0.000	0.000	0.000
4	0.000	1.333	0.7333	0.000	0.000	0.000
5	0.067	0.333	0.133	0.000	0.067	0.000
6	0.000	0.200	0.400	0.000	0.000	0.000
7	0.000	0.333	0.133	0.000	0.000	0.000
8	0.000	8.374	9.852	0.000	3.94	0.000
9	0.000	0.667	0.000	0.000	0.000	0.000
10	0.000	0.800	0.333	0.000	0.067	0.000
11	1.867	25.600	8.467	0.000	5.333	0.000
12	0.000	1.333	0.000	0.000	1.800	0.000
13	0.000	0.200	0.400	0.000	0.333	0.000
14	0.000	0.333	0.733	0.000	0.067	0.000
15	0.067	0.800	0.133	0.000	1.670	0.000
16	0.000	0.333	0.000	0.000	0.333	0.000
17	0.000	0.374	8.467	0.000	3.940	0.000
PROMEDIO	0.118	3.911	2.556	0.008	2.201	0.004

Tabla XV. PROMEDIO, ERROR ESTANDAR (E. E.), DESVIACION ESTANDAR (D. E.), Y *t* de Student DE LOS PORCENTAJES DE LAS FRECUENCIAS DE ANORMALIDADES NUCLEARES EN CELULAS DE DESCAMACION DEL EPITELIO URINARIO EN LOS GRUPOS EXPUESTO (E) (Tabla XIII) Y TESTIGO (T) (Tabla XIV).

	Binucleas		Condensacion cromatinica		Carionolisis		Carionorexis		Picnosis		Rompimiento de hueso	
	E	T	E	T	E	T	E	T	E	T	E	T
PROMEDIO	2.064	0.188	20.897	3.911	17.81	2.556	0.022	0.008	9.591	2.201	0.006	0.004
E. E.	0.756	0.110	2.222	1.990	2.005	0.957	0.020	0.008	1.869	1.175	0.003	0.004
D. E.	4.902	0.451	14.40	8.204	13.00	3.944	0.128	0.032	12.11	4.844	0.018	0.016
<i>t</i> de Student	2.547		5.695		6.732		2.883		3.348		0.497	
P	<0.05*		<0.001**		<0.0001**		<0.05*		<0.05*		>0.05	

*Diferencias significativas

**Diferencias muy significativas

7.FIGURAS

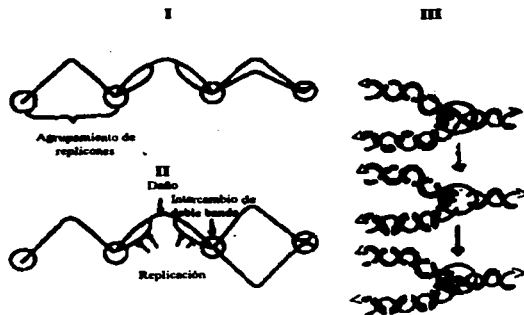


Figura 1. Modelo de inducción de ICH de Painter

I Progresión de la duplicación del DNA entre los agrupamientos de replicones (círculos) que separan replicones subsecuentes.

II Retardo en la duplicación debido a daño e incremento de la posibilidad de intercambio de doble banda.

III Ruptura de doble banda y reunión de la banda hija de la molécula replicada a la molécula no replicada dando lugar al intercambio de doble banda.

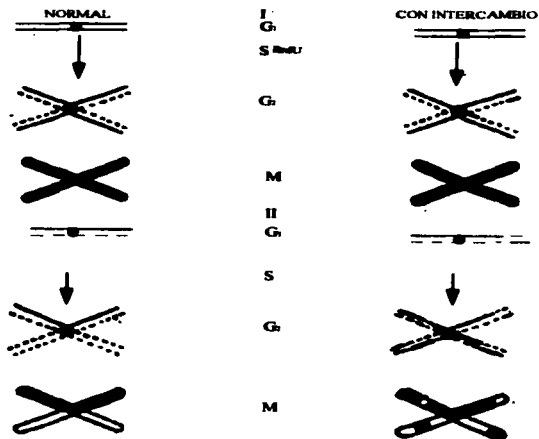


Figura 2. Diagrama de tinción diferencial

La síntesis se lleva a cabo en presencia de BrdU, en la primera división se observa una sustitución unifilar, mientras que en la segunda la sustitución es bifilar, lo que permite ver los ICH.

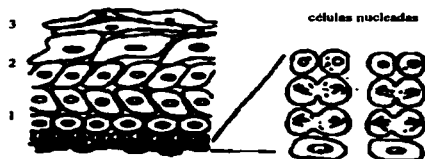


Figura 3. Esquema de la formación de MN en epitelio plano estratificado

Las capas celulares son: (1) células basales en división; (2) células intermedias que no se dividen y están madurando; (3) células superficiales maduras. Los MN se producen principalmente por daño cromosómico en las células basales.

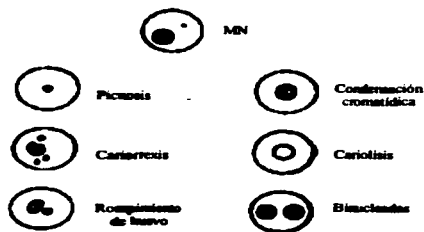


Figura 4. Diagrama de la morfología de los MN y anomalías nucleares

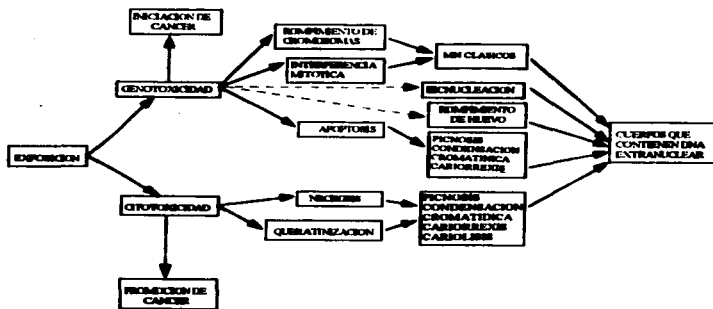


Figura 5. Diagrama de algunas vías postuladas a producir cuerpos con DNA-extranuclear (MEN)

ANEXO

ANEXO

CUESTIONARIO PARA EL PERSONAL DEL QUIROFANO

Nombre _____

Edad _____ Estado civil _____

Peso _____

Dirección _____

Número de hijos _____ Edades _____

¿ Cuántos cigarros fuma al día? _____
ninguno menos de 10 más de 10

¿ Cuánto tiempo tiene de fumar? _____

¿Hace cuánto tiempo fumó el último cigarro? _____

¿Toma bebidas alcohólicas? _____
no ocasionalmente frecuentemente

¿Cuánto tiempo tiene de beber? _____

¿Toma café? _____ ¿Desde cuándo lo consume? _____
si no

¿Cuántas tazas de café toma al día? _____

¿Es alérgico a algo? _____ ¿Desde hace cuánto tiempo? _____
si no

¿Lo han vacunado recientemente? _____ ¿ Qué vacuna? _____
si no

- ¿ Ha sufrido alguna infección en los últimos 2 meses? _____
si no
- ¿Cuál? _____
- ¿ Padece alguna enfermedad? _____ Cuál? _____
si no
- ¿Ha tomado medicamentos en los últimos 2 meses? _____
si no
- ¿Cuáles? _____
- ¿Le han tomado radiografías recientemente? _____ Cuántas? _____
si no
- ¿Ha tomado radiografías recientemente? _____ ¿Cuántas? _____
si no
- ¿Alguno de sus familiares cercanos, o usted, ha tenido cáncer? _____
si no
- ¿Cuál es el parentesco? _____
- ¿Su esposa ha tenido abortos repetidos? _____ Cuántos? _____
si no
- ¿Todos sus hijos han nacido sanos? _____
- ¿Le han realizado operaciones? _____ Cuántas? _____
si no
- ¿Dónde se las realizaron? _____
- ¿Cuándo se las realizaron? _____
- Ha tomado alguna(s) vitamina(s) en los últimos 2 meses? _____
si no
- ¿Qué clase de vitamina(s)? _____
- ¿ Ha padecido alguna de éstas enfermedades? _____
SI NO

Hepatitis	_____	_____
Herpes	_____	_____
Meningitis	_____	_____
Infecciones por bacterias o virus	_____	_____
Enfermedades cardiovasculares	_____	_____
Otras	_____	_____

Padece alguna(s) de estas enfermedades?

SI NO

Diabetes	_____	_____
SIDA	_____	_____
Otras	_____	_____

¿Dónde labora? _____

¿Qué trabajo realiza? _____

¿Cuál es la antigüedad en su empleo? _____

¿Cuántas horas pasa en el lugar de trabajo? _____

¿Antes trabajaba en otro(s) lugar(es)? _____

¿Dónde? _____

¿Hace cuánto tiempo? _____

¿Cuál era su actividad? _____

¿Cuál era su horario? _____

REFERENCIAS

- Abe, S. y M. Sasaki. Chromosome aberrations and sister chromatid exchanges in Chinese hamster cells exposed to various chemicals. *J. Natl. Cancer Inst.* 58 (1977) 1635-1641.
- Andersen, N. B. The effect of CNS depressants on mitosis. *Acta Anaesthesiol. Scand.* 10 (1966) 2-36.
- Antoku, S. DNA single-strand breaks of perheated cultured mammalian cells irradiated under nitroge-y nitrous oxide- saturated conditions. *Radiat. Res.* 71 (1977) 678-682.
- Askrog, V. y B. Harvald. Teratogen effect of inhalation anesthetics. *Nord. Med.* 83 (1970) 498-504.
- Baden, J. M., M. Brinkenhoff, R. Wharton, B. Hitt, V. Simmon y R. Mazze. Mutagenicity of volatile anesthetics: halothane. *Anesthesiology* 45 (1976a) 311-318.
- Baden, J. M., M. Kelley, R. Wharton, B. Hitt, R. Mazze y V. Simmon. Mutagenicity of fluoroxene. *Anesthesiology* 45 (1976b) 695.
- Baden, J. M., M. Kelley, R. Wharton, B. Hitt, V. Simmon y R. Mazze. Mutagenicity of halogenated ether anesthetics. *Anesthesiology* 46 (1977) 346-350.
- Baden, J. M., M. Kelley, V. Simmon, S. Rice y R. Mazze. Fluroxene mutagenicity. *Mutat. Res.* 58 (1978a) 183-191.
- Baden, J. M., M. Kelley, R. Mazze y V. Simmon. Mutagenicity of urine of anesthesiologists. Abstracts of Scientific Papers of American Society of Anesthesiologists Annual Meeting (1978b) 553-554.
- Baden, J. M., M. Kelley, R. Mazze y V. Simmon. Mutagenicity of inhalation anesthetics: nitrous oxide, cyclopropane, trichoroethylene y divinyl ether. *Br. J. Anaesth.* 51 (1979) 417-421.
- Baden, J. y V. Simmon. Mutagenic effects of inhalational anesthetics. *Mutat. Res.* 75 (1980) 169-189.
- Banerjee, S., B. L. van Durren y B. M. Goldschmidt. Microsome-dependent covalent binding of the carcinogen trichoroethylene to cellular macromolecules. *Proc. Am. Cancer Res.* 18 (1977) 34-37.

- Barbin, A., G. Planche, A. Croisy, C. Malaveille y H. Bartsch. Detection of electrophilic metabolites of halogenated olefins with 4-(4-nitrobenzyl)pyridine with *Salmonella typhimurium*. *Mutat. Res.* 53 (1978) 150-159.
- Barregard, L., B. Hogstetd, A. Schutz, A. Karlsson, G. Sallsten y G. Thiringer. Effect of occupational exposure to mercury vapor on lymphocyte micronuclei. *Scand. J. Work Environ. Health* 17 (1991) 263-268.
- Bartsch, H., C. Malaveille, A. Barbin, G. Planche y R. Montesano. Alkylating and mutagenic metabolites of halogenated olefins produced by human y animal tissues. *Proc. Am. Assoc. Cancer Res.* 17 (1976) 17-20.
- Beattie, K. L. y R. Kimbell. Involvement of DNA replication and repair in mutagenesis of *Haemophilus influenzae* induced by N-nitrosocarbaryl. *Mutat. Res.* 24 (1974) 105-115.
- Beranek, D. T., C. C. Weiss y D. H. Swenson. A comprehensive quantitative analysis of methylated y ethylated DNA using high pressure liquid chromatography. *Carcinogenesis* 1 (1980) 595-606.
- Beranek D. T. Distribution of methyl and ethyl adducts following alkylation with monofunctional alkylating agents. *Mutat. Res.* 231 (1990) 11-30.
- Bernard, C. Leçons sur les phénomènes de la vie communs aux animaux et végétaux. Baillière, Paris, 1878.
- Block, J. B. Angiosarcoma of the liver following vinyl chloride exposure. *J. Am. Med. Ass.* 229 (1974) 53-55.
- Bolognesi, C., M. Parrini, S. Bonasi, G. Ianello y A. Salanitro. Cytogenetic analysis of human population occupationally exposed to pesticides. *Mutat. Res.* 285 (1993) 248-293.
- Bonatti, S., L. Simi y A. Abbondandolo. The effect of thymidine on the induction of micronuclei by alkylating agents in V79 Chinese hamster cells. *Mutat. Res.* 150 (1985) 347-353.
- Bonatti, S. y A. Abbondandolo. The search for the molecular lesion responsible for the induction of chromosomal damage by alkylating agents. *Ann. Inst. Super. Sanita* 25 (1989) 205-212.
- Bonatti, S., G. Cercignani, M. Rocco y A. Abbondandolo. Aneuploidy induction by alkylated bases y nucleosides in mammalian cells. En: Mendelson M. L. y R. J.

- Albertini (Eds.). *Mutation. and the Environment. Parte B. Metabolism, Testing Methods, and Chromosomes*. Prog. Clin Biol. Res. 340 B (1990) 237-246.
- Brendel M. y A. Ruhly. Relationships between functionality and genetic toxicology of selected DNA-damaging agents. *Mutat. Res.* 133 (1984) 51-85.
- Bronzetti, G., E. Zieger y D. Frezza. Genetic activity of trichloroethylene in yeast. *J. Environ. Pathol. Toxicol.* 1 (1978) 411-418.
- Brown, B. R. y A. M. Sagalyn. Hepatic microsomal enzyme induction by inhalation anesthetics. *Anesthesiology* 40 (1974) 152-161.
- Bruce, D. L., K. Eide, H. Linde y J. Eckenhoff. Causes of death among anesthesiologists: a 20-year survey. *Anesthesiology* 29 (1968) 565-569.
- Bruce, D. y H. Traurig. Effect of halothane on the cycle in rat small intestine. *Anesthesiology* 30 (1969) 401-405.
- Bruce, D. L., K. Eide, N. Smith, F. Seltzer y H. Dykes. A prospective survey of anesthesiologist mortality, 1967-1971. *Anesthesiology* 41 (1974) 71-74.
- Bruchovsky, N. Effects of beta-phenethyl alcohol on mouse L cells in suspension culture. II. Effects on the cell division cycle. *Mol. Pharmacol.* 3 (1967) 133-141.
- Burholt, D. R. y J. Van't Hoff. Cell population kinetics of *Pisum* root meristem cell during and after a mitotic inhibitory exposure to protected gamma irradiation. *Int. J. Radiat. Biol.* 21 (1972) 307-319.
- Carrano A. V. y L. H. Thompson. Sister chromatid exchanges and single gen. En: Wolff S. (Ed.), *Sister Chromatid Exchange*. Wiley, Nueva York (1982) pp. 59-86.
- Cerná, M. y H. Kypénová. Mutagenic activity of chloroethylenes analyzed by screening system test. *Mutat. Res.* 46 (1977) 214-215.
- Coate, W. B., R. W. Kapp y T. R. Lewis. Chronic exposure to low concentrations of halothane-nitrous oxide: reproductive and cytogenetic effects in the rat. *Anesthesiology* 50 (1979) 300-318.
- Cohen, E. N. Metabolism of halothane-2- C in the mouse. *Anesthesiology* 31 (1969) 560-585.
- Cohen, E. N., J. W. Belville y B. Brown. Anesthesia, pregnancy y miscarriage: a study of operating room nurses and anesthesists. *Anesthesiology* 35 (1971) 343-347.

- Cohen, E. N., J. Trudell, H. Edmunds y E. Watson. Urinary metabolite of halothane in man. *Anesthesiology* 43 (1975) 392-401.
- Connel, J. R. y A. S. C. Medcalf. The induction of SCE y chromosomal aberration with relation to specific base methylation of DNA in Chinese hamster cell by N-methyl-N-nitrosourea y dimethyl sulfate. *Carcinogenesis* 3 (1982) 385-390.
- Corbett, T. H., R. Cornell, K. Liedling y J. Endres. Incidence of cancer among Michigan nurse anesthetists. *Anesthesiology* 38 (1973) 260-263.
- Corbett, T. H., R. Cornell, J. Endres y K. Liedling. Birth defects among children's nurse anesthetists. *Anesthesiology* 41 (1974) 341-344.
- Corbett, T. H. Cancer and congenital anomalies associated with anesthesia. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 271 (1976) 58-66.
- Craig-Holmes, A. D. Effects of 6 carcinogens on SCE frequencies y cell kinetics in cultured human lymphocytes. *Mutat. Res.* 46 (1977) 375-384.
- Cresch, J. L. y M. N. Johnson. Angiosarcoma of the liver in the manufacture of polyvinylchloride. *J. Occup. Med.* 16 (1974) 150-151.
- Crossen, P. E. y W. F. Morgan. Proliferation of PHA stimulation lymphocyte measured by combined autoradiography and sister chromatid differential staining. *Exp. Cell Res.* 118 (1977) 423-426.
- Darroudi, F. A. T. Natarajan y P. H. M. Lohman. Cytogenetical characterization of UV-sensitive repair-deficient CHO cell line 43-3B. II. Induction of cell killing, chromosomal aberrations and sister chromatid exchanges by 4NQO, mono- y bifunctional alkylating agents. *Mutat. Res.* 212 (1989) 103-112.
- Davidson, D. A method for estimating mitotic rates in *Vicia* roots after X-irradiation. *Brit. J. Radiol.* 32 (1959) 612-614.
- De Carvalho, F., S. R. Dotto y J. C. Possamai. Induction of polyploidy using colchicine. *Cienc. Cult. (Sao Paulo)* 29 (1977) 284-293.
- Den Engelse, L., G. L. Menkveld, R. J. De Brij y A. D. Tates. Formation and stability of alkylated pyrimidine and purines (including imidazole ring-opened-7-alkylguanine) and alkylphosphotriesters in liver DNA of adult rats treated with ethylnitrosourea or dimethyl nitrosamine. *Carcinogenesis* 7 (1986) 393-403.

- Di Giorgio, C., M. P. De Meo, M. Laget, H. Guiraud, A. Botta y G. Dumenil. The micronucleus assay in human lymphocytes: screening for interindividual variability and application to biomonitoring. *Carcinogenesis* 15 (1994) 313-317.
- Díaz, S., G. Fonseca e I. Fernández. Analysis of lymphocyte and oral mucosa cell micronuclei in Cuban paint industry workers. *Hereditas* 113 (1990) 77-80.
- Doll, R. y R. Peto. Mortality among doctors in different occupations. *Br. Med. J.* i (1977) 1433-1436.
- Duijnm, W. A. L. y P. Van Duijn. The influence of chromatin compactness on the stoichiometry of the Fulgen-Schiff procedure studied in model films. *Histochem. Cytochem.* 23 (1975) 882-890.
- Dumas, D., R. Vaulx y E. Pochard. Effect of nitrous oxide on the induction of haploidy in the garden pepper (*Capsicum annuum* L.). *Ann. Amélior. Plant.* 24 (1974) 283-306.
- Dutrillaux, B. y A. M. Fosse. Utilisation de BrdUrd dans L'étude du cycle cellulaire de sujets normaux et anormaux. *Ann. Genet.* 19 (1976) 5-102.
- Dvorak, J. y B. L. Harvey. Production of aneuploids in *Avena sativa* L. by nitrous oxide. *Can. J. Genet. Cytol.* 15 (1973) 649-651.
- Dvorak, J., B. L. Harvey y B. E. Coulman. Use of nitrous oxide for producing eupolyploids y aneuploids in wheat y barley. *Can. J. Genet. Cytol.* 15 (1973) 205-214.
- Edmunds, H., J. Baden y V. Simmon. Mutagenicity studies with volatile metabolites of halothane. *Anesthesiology* 51 (1979) 424-429.
- EPA. Guidelines for Mutagenicity Risk Assessment. Federal Register. Parte III. United States Environmental Protection Agency (FRL-2983-9 (1986) 1-22.
- Evans, J. H. y M. L. O'Riordan. Human peripheral blood lymphocytes for analysis of chromosome aberrations in mutagens test. *Mutat. Res.* 31 (1975) 135-148.
- Fahrig, R. Mammalian spot test (Felfleckentest) with mice. *Arch. Toxicol.* 38 (1977a) 87-98.
- Fahrig, R. The sensitivity of the mammalian spot test to mutagens of different types of action. *Mutat. Res.* 46 (1977b) 202-207.
- Fenech, M. y A. Morley. Measurement of micronuclei in lymphocytes. *Mutat. Res.* 147 (1985a) 29-336.

- Fenech, M. y A. Morley. The effect of donor age on spontaneous y induced micronuclei. *Mutat. Res.* 148 (1985b) 99-105.
- Fenech, M. The cytokinesis-block micronucleus technique: a detailed description of the method and its application to genotoxicity studies in human populations. *Mutat. Res.* 285 (1993) 35-44.
- Ferguson, L. R., P. M. Turner, T. A. Gourdie, K. K. Valu y W. A. Denny. "Petite" mutagenesis y mitotic cross-over in yeast by DNA-targeted alkylating agents. *Mutat. Res.* 215 (1989) 213-222.
- Fink, B. R. y B. F. Cullen. Anesthetic pollution: What is happening to us ? *Anesthesiology* 45 (1976) 79-83.
- Fluck, E., L. Poirier y H. Ruelius. Evaluation of a DNA polymerase-deficient mutant of *E. coli* for the rapid detection of carcinogens. *Chem. Biol. Interact.* 15 (1976) 219-231.
- Garrett, S. y R. Fuerst. Sex-linked mutants in *Drosophila* after exposure to various mixtures of gas atmospheres. *Environ. Res.* 7 (1974) 286-293.
- Gerro, A. y R. Philippe. Mutagenicity of the halogenated olefin, 2-bromo-2-chloro-1,1 difluoroethylene, a presumed metabolite of the inhalation anesthetic halothane. *Environ. Health Perspect.* 21 (1977) 65-69.
- Gion, H., N. Yoshimura, D. Holesday, V. Fiserova-Bergerova y R. Chase. Biotransformation of fluorozone in man. *Anesthesiology* 40 (1974) 553-562.
- Gonzabett, M. E. y O. Mutchinick. Human lymphocyte proliferation kinetics in Hanks' BSS supplemented with autologous plasma y synthetic medium. *Mutat. Res.* 243 (1990) 255-258.
- Grant, C., J. Powell y S. Radford. Halothane and the cell cycle. *Br. J. Anaesth.* 45 (1973) 923-928.
- Grant, C., J. Powell y S. Radford. Effects of halothane on DNA synthesis and mitosis in root tip meristems of *Vicia faba*. *Br. J. Anaesth.* 46 (1974) 653-657.
- Grant, C. y J. Powell. Chromosomal abnormalities induced in *Vicia faba* by inhalational anaesthetics. *Heredity* 38 (1977) 270-278.
- Grant, C., J. Powell y S. Radford. Induction of chromosomal abnormalities by inhalational anaesthetics. *Mutat. Res.* 46 (1977) 177-184.

- Greim, H., G. Bonse, Z. Radwan, D. Reichert y D. Henschler. Mutagenicity *in vitro* and potential carcinogenicity of chlorinated ethylenes as a function of metabolic oxirane formation. *Biochem. Pharmacol.* 24 (1975) 2013-2017.
- Greim, H., D. Gimboes, G. Egbert, W. Goeggelmann y M. Kraemer. Mutagenicity and chromosomal aberrations as an analytical tool for *in vitro* detection of mammalian enzyme-mediated formation of reactive metabolites. *Arch. Toxicol.* 39 (1977) 159-169.
- Haber, A. H. y D. E. Foard. Further studies of gamma-irradiated wheat and their relevance to use of mitotic inhibition for developmental studies. *Amer. J. Bot.* 51 (1964) 151-159.
- Haddlie, J. Micronuclei *in vivo*. *Prog. Clin. Biol. Res.* 340 (1990) 207-216.
- Henschler, D., E. Eder, T. Neudecker y M. Metzler. Carcinogenicity of trichloroethylene: fact or artifact. *Arch. Toxicol.* 37 (1977) 233-236.
- Hirsch, J. y A. Kappas. On the quantities of anaesthetics ether in the air of operating rooms. *Z. Hyg.* 110 (1929) 391-398.
- Hittelman, W. y P. Rao. Bleomycin-induced damage in prematurely condensed chromosomes and its relationship to cell cycle progression in CHO cells. *Cancer Res.* 34 (1974) 3433.
- Hogstedt, B. Micronuclei in lymphocytes with preserved cytoplasm - a method for assessment of cytogenetic damage in man. *Mutat. Res.* 130 (1984) 63-72.
- Hollstein, M. y J. McCann. Short-term tests for carcinogens and mutagens. *Mutat. Res.* 65 (1979) 133-226.
- Howell, W. H. The life-history of the formed elements of the blood, especially of the red blood corpuscles. *J. Morphol.* 4 (1891) 97-101.
- Huber, R., H. Braselmann y M. Bauchinger. Screening for interindividual differences in radiosensitivity by means of the micronucleus assay in human lymphocytes. *Radiat. Environ. Biophys.* 28 (1989) 113-120.
- Husum, B. y H. Wulf. Sister chromatid exchanges in lymphocytes in operating room personnel. *Acta Anaesth. Scand.* 24 (1980) 22-24.

- Husum, B. H. Wulf y E. Niebuhr. Sister chromatid exchanges in lymphocytes after anaesthesia with halothane or enflurane. *Acta Anaesth. Scand.* 25 (1981) 97-98.
- Husum, B., H. Wulf y E. Niebuhr. Increased sister chromatid exchange frequency in lymphocytes in healthy cigarette smokers. *Hereditas* 96 (1982a) 85-88.
- Husum, B., H. Wulf y E. Niebuhr. Sister chromatid exchanges in human lymphocytes after anesthesia with fluroxene. *Br. J. Anaesth.* 54 (1982b) 987-990.
- Husum, B., E. Niebuhr, H. C. Wulf e I. Nørgaard. Sister chromatid exchanges and structural chromosome aberrations in operating room personel. *Acta Anaesthesiol. Scand.* 27 (1983) 262-265.
- Husum, B. H. C. Wulf y E. Niebuhr. Monitoring of sister chromatid exchanges in lymphocytes of nurse-anesthetists. *Anesthesiology* 62 (1985a) 475-479.
- Husum, B., N. Valentin, C. H. Wulf, A. Halaburt y E. Niebuhr. Sister chromatid exchanges in cigarette smokers: effects of halotane, isoflurane or subarachnoid blockade. *Br. J. Anaesth.* 57 (1985b) 1100-1103.
- Husum, B., H. Wulf y E. Niebuhr. Sister chromatid exchange frequency correlates with age, sex and cigarette smoking in a 5-year material of 5533 healthy adults. *Hereditas* 105 (1986) 17-21.
- Ilett, K., W. Ried, I. Sipes y G. Krishna. Chloroform toxicity in mice: correlation of renal and hepatic necrosis with covalent binding of metabolites to tissue macromolecules. *Exp. Mol. Pathol.* 19 (1973) 215-229.
- Ingel', F. I., N. M. Gevorkain, N. A. Ilkushina, B. I. Leitina, L. M. Prikhozhan, E. L. Perverzeva and I.A. Revazova. Prolongued psychoemotional stress as inducer of mutations in mammals and as a modifier of mutagenesis. *Bull. Eksp. Biol. Med.* 116 (1993) 307-309.
- Ishii, Y. y Bender M. A. Effects of inhibitors of DNA synthesis on spontaneous and ultraviolet light induced sister chromatid exchanges in Chinese hamster cells. *Mutat. Res.* 48 (1980) 337-354.
- Jensen, D. The induction of micronuclei. En: Wolff S. (Ed.) *Sister chromatid exchange*. Alan R. Liss, Inc. Nueva York vol. 2 (1982) 47-63.
- Jolly, J. Sur l'évolution des globules rouges dans le sang des embryons de mammifères. *C. R. Soc. Biol. (Paris)* 58 (1905) 593-599.

- Kato, H. Spontaneous sister chromatid exchanges detected by BrdU-labelling method. *Nature* 251 (1974) 70-72.
- Kierszenbaum, F., W. R. Cuna, L. A. Beltz y M. B. Szein. Trypanosoma immunosuppressive factor: a secretion product(s) of *Trypanosoma cruzi* that inhibits proliferation and IL-2 receptor expression by activated human peripheral blood mononuclear cells. *J. Immunol.* 144 (1990) 4000-4004.
- Kihlman, B. A. *Actions of Chemicals on Dividing Cells*. Protnice-Hall, Englewood Cliffs, Nueva Jersey (1966) pp. 260.
- Kinsella, A. R. y M. Radman. 1978. Tumor promotor induces sister chromatid exchanges: relevance to mechanism of carcinogenesis. *Proc. Natl. Acad. Sci. (USA)* 75 (1978) 6149-6153.
- Knill-Jones, R., D. Moir, L. Rodríguez y A. Spence. Anaesthetics practice y pregnancy: a controlled survey of women anaesthetists in the United Kingdom. *Lancet* 1 (1972) 1326-1328.
- Knill-Jones, R., B. Newman y A. Spence. Anaesthetic practice y pregnancy: controlled survey of male anaesthetists in the United Kingdom. *Lancet* 2 (1975) 807-809.
- Kovacs, C. J. y J. Van't Hof. Mitotic delay and the regulating events of plant cell proliferation: DNA replication by a G₁/S population. *Radiat. Res.* 48 (1971) 95-106.
- Kraemer, M., D. Bimboes y H. Greim. *S. typhimurium* and *E. coli* to detect chemical mutagens. *Naunyn Schmiedebergs Arch. Pharmacol.* 284 (1974) 46R.
- Kramer, P. y G. Burm. Mutagenicity studies with halothane in *Drosophila melanogaster*. *Anesthesiology* 50 (1979) 510-513.
- Kratochvil, M. B. Rummelstein, U. Reimers, M. Weichenhal, H. Mensing, E. W. Breitbart y H. W. Rudiger. Constitutively increased micronuclei are predominantly caused by acentric fragments. *Mutat. Res.* 249 (1991) 223-226.
- Krechkovsky, E. y L. Shkvar. On the mutagenic effect of fluothane. *Eksp.* 18 (1973) 72-73.
- Krishna, G., J. Xu, J. Nath, M. Petersen y T. Ong. *In vitro* cytogenetic studies on mice exposed to ethylene dibromide. *Mutat. Res.* 158 (1985) 81-87.
- Kusyk, C. y T. Hsu. Mitotic anomalies induced by three inhalation halogenated anesthetics. *Environ. Res.* 12 (1976) 336-370.

- Kyprianou, N., H. English y J. Isaacs. Programmed cell death during regression of PC-82 human prostate cancer following androgen ablation. *Cancer Res.* 50 (1990) 3748-3753.
- Lambert, B., A. Lindblad, M. Nordenskjold y B. Werelius. Increased frequency of sister chromatid exchanges in cigarette smokers. *Hereditas* 88 (1978) 147-155.
- Lambert, B., A. Lindblad, K. Holmberg y D. Francesconi. The use of sister chromatid exchange to monitor human populations for exposure to toxicologically harmful agents. En: S. Wolff (Ed.). *Sister Chromatid Exchange*, Wiley, Nueva York (1982), pp.149-182.
- Lamberti, L., P. Bigatti-Ponzetto y G. Ardito. Cell kinetics and sister-chromatid-exchange frequency in human lymphocytes. *Mutat. Res.* 120 (1983) 193-199.
- Larramendy, M. L., M. A. Reigosa y M. S. Bianchi. Erythrocytes modulate the baseline frequency of sister-chromatid exchanges and the kinetics of lymphocyte division in culture. *Mutat. Res.* 232 (1990) 63-70.
- Larason, K. S., J. Sahn, R. Shenkar y B. Strauss. Methylation-induced block to *in vitro* DNA replication. *Mutat. Res.* 150 (1985) 77-84.
- Lassen, H., E. Henriksen, F. Neukirch y H. Kristensen. Treatment of tetanus-severe bone marrow depression after prolonged nitrous oxide anesthesia. *Lancet* 1 (1956) 527-530.
- Latt, S. A. Sister chromatid exchanges, indices of human chromosome damage and repair: detection by fluorescence y induction by mitomycin-C. *Proc. Natl. Acad. Sci. (USA)* 71 (1974) 3162-3166.
- Latt, S. A., G. Stetten, L. A. Jueergens, J. R. Buchanan y P. S. Gerald. Induction by alkylating agents of sister chromatid exchanges and chromatid breaks in Fanconi's anemia. *Proc. Natl. Acad. Sci. (USA)* 72 (1975) 4066-4070.
- Latt, S., R. Schreck, K. Loveday y C. Shuler. *In vitro* y *in vivo* analysis of sister chromatid exchange. *Pharmacol. Rev.* 30 (1979) 501-508.
- Latt, S. A., R. R. Schreck, K. S. Loveday, Ch. P. Dougherty y Ch. F. Shuler. Progress in Human Genetics. Symposium, Nueva York (1980) pp. 267-331.

- Latt, S. A., J. Allen, S. E. Bloom, A. Carrano, E. Falke, D. Kram, E. Schneider, R. Schreck, R. Tice, B. Whitfield y S. Wolff. Sister chromatid exchanges in human lymphocytes after exposure to diagnostic ultrasound. *Science* 205 (1981) 1273-1275.
- Latt, S. A. Sister chromatid exchanges: new method for detection. En: S. Wolff (Ed.). *Sister Chromatid Exchanges*. Wiley, Nueva York (1982), pp. 17-40.
- Lawley P. D. y C. J. Thatcher. Methylation of deoxyribonucleic acid in cultured mammalian cells by N-methyl-N-nitro-N-nitrosoguanidine: the influence of cellular thiol concentrations on the extent of methylation and the 6-oxygen atom of guanine as a site of methylation. *Biochem. J.* 116 (1970) 893-907.
- Lehucher-Michel, M. P., Y. Ait Amara-Mokrane, B. Devictor, P. Catilina y A. Botta. Micronuclei kinetics of exfoliated urothelial cells. *Mutat. Res.* 354 (1996) 1-7.
- Lehucher-Michel, M. P., C. Di Giorgio, Y. Ait Amara, M. Laget y A. Botta. The micronucleus assay in human exfoliated urothelial cells: effect of smoking. *Mutagenesis* 10 (1995) 329-332.
- Maki-Paakkonen, J., S. Wallen, S. Osterman-Goltkar y H. Norppa. Single-strand breaks, chromosome aberrations, sister-chromatid exchanges and micronuclei in blood lymphocytes of workers exposed to styrene during the production of reinforced plastic. *Environ. Mol. Mutagen.* 17 (1991) 27-31.
- Malaragno, M. I. y M. de A. Smith. Sister-chromatid exchange and proliferation in lymphocytes from newborns, elderly subjects and in premature aging syndromes. *Mech. Ageing Dev.* 15 (1990) 43-53.
- Margison G. P. y P. Kleihues. Chemical carcinogenesis in the nervous system: preferential accumulation of O6-methylguanine in rat brain DNA during repetitive administration of N-methyl nitrosourea. *Biochem. J.* 148 (1975) 521-525.
- Martin, M. De l'anesthésie par le protoxyde d'azote avec ou sans tension. Delahaye, Lacrosmier y Georg. 1883.
- Mazze, R., J. Trudell y M. Cousins. Methoxyflurane metabolism and renal dysfunction: clinical correlation in man. *Anesthesiology* 35 (1971) 247-252.
- McCoy, E., R. Hankel, H. Rosen Kranz, J. Gluffrida y D. Bizzari. Detection of mutagenic activity in the urines of anesthesiologists: a preliminary report. *Environ. Health Perspect.* 21 (1977) 221-223.

- McGill, M., S. Pathak y T. C. Hsu. Effect of ethidium bromide on mitosis and chromosomes: a possible material basis for chromosome stickiness. *Chromosoma* 47 (1974) 157-167.
- Meselson, M. y F. W. Stahl. The replication of DNA in *E. coli*. *Proc. Natl. Acad. Sci. (USA)* 44 (1958) 671-682.
- Meyer, H. Zur Theorie der Alkohalnarkose. *Arch. Exptl. Pathol. Pharmacol. Naunyn-Schmiedeberg's*. 42 (1899) 109-118.
- Montezuma-De-Carvalho, J. Effect of N_2O on pollen tube mitosis in styles y its potential significance for inducing haploidy in potato. *Euphytica* 16 (1967) 190-198.
- Montezuma-De-Carvalho, J. Effect of N_2O on meiosis. *Bol. Soc. Broteriana* 47 (1973) 5-16.
- Morgan, T. H. The failure of ether to produce mutants in *Drosophila*. *Am. Nat.* 48 (1914) 705-711.
- Morgan, W. F. y J. E. Cleaver. 3-amine benzamide synergistically increases sister chromatid exchanges in cells exposed to methane sulfonate but no to ultraviolet lighth. *Mutat. Res.* 104 (1982) 361-366.
- Mutchinick, O., R. Lisker, L. Ruz, F. Salamanca y S. Armendares. Frequency of sister-chromatid exchanges in severe protein calorie malnutrition. *Ann. Genet.* 22 (1979) 129-132.
- Nakanishi, Y. y E. L. Schneider. *In vitro* sister chromatid exchanges: a sensitive measure of DNA damage. *Mutat. Res.* 60 (1979) 329-337.
- Natarajan, A. T., J. W.I. M. Simons, E. W. Vogel y A. A. van Zeely. Relationship between cell killing, chromosomal aberrations, sister chromatid exchanges and point mutations induced by monofunctional alkylating agents in Chinese hamster cells. A correlation with different ethylation products in DNA. *Mutat. Res.* 128 (1984) 31-40.
- Nygren, A. Polyploids in *Melvyrium* produced by nitrous oxide. *Hereditas* 41 (1955) 287-290.
- Obe, G., B. Beak y G. Dudin. The human leukocyte test system. V. DNA synthesis and mitosis in PHA-stimulated three days cultures *Humangenetik* 28 (1975) 295-302.

- Oikawa, A., H. Thoda, M. Kanai, M. Miwa y T. Sugimura. Inhibitors of poli, (adenosine diphosphate ribose), polymerase induce sister chromatid exchanges. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 97 (1980) 1311-1316.
- Onfelt, A. y C. Ramel. Some aspects on the organization of microfilaments and microtubules in relation to non-disjunction. *Environ. Health Perspect.* 31 (1979) 45-52.
- Ostergren, G. Colchicine mitosis, chromosome concentrations, narcosis, and protein chain folding. *Hereditas* 30 (1944) 429-467.
- Ostergren, G. Polyploids and aneuploids of *Crypts capillaris* produced by treatment with nitrous oxide. *Genetica* 27 (1954) 54-64.
- Ostergren, G. Production of polyploids and aneuploids of *Phalaris* by means of nitrous oxide. *Hereditas* 43 (1957) 512- 516.
- Osterman-Golkard S., S. L. Ehrenberg, D. Segerback, e I. Hallstrom. Evaluation of genetic risks of alkylating agents. II. Haemoglobin as a dose monitor. *Mutat. Res.* 34 (1976) 1-10.
- Overton, E. Studien über die Narkose. *Jena* (1901) 231-239.
- Painter, R. B. A replication model for sister chromatid exchange. En: Syberg A. A. (Ed.). *Progress and topics in cytogenetics sister chromatid exchange.* Alan Liss, Nueva York, (1982) vol. 2, pp. 67-97.
- Peters, F. P. The significance of DNA and protein adducts in human biomonitoring studies. *Mutat. Res.* 205 (1988) 255-269.
- Perry, P. y S. Wolff. New Giemsa method the different staining of sister chromatids. *Nature* 257 (1974) 156-159.
- Perry, P. y H. Evans. Cytological detection of mutagen-carcinogen exposure by sister chromatid exchange. *Nature (Lond.)* 258 (1975) 121-127.
- Pharoah, P., E. Alberman y P. Doyle. Outcome of pregnancy among women in anaesthetic practice. *Lancet* 1 (1977) 34-36.
- Pindborg, J., J. Raibel, B. Roed-Petersen y F. Mehta. Tobacco-induced changes in oral leukoplakic epithelium. *Cancer* 45 (1980) 2330-2336.
- Poirier, L., G. Stober y M. Shimkin. Bioassay of alkyl halides and nucleotide base analogs by pulmonary tumor response in strain A mice. *Cancer Res.* 35 (1975) 1411-1415.

- Rainaldi, R. y T. Mariani. The distribution of induced sister-chromatid exchanges: a tool for identifying agents directly interacting with DNA. *Mutat. Res.* 103 (1982) 333-337.
- Reali, D., F. Di Mario, S. Bahrmypour, A. Carducci, R. Barale y N. Loprieno. Micronuclei in exfoliated urothelial cells and urine mutagenicity in smokers. *Mutat. Res.* 192 (1987) 145-149.
- Ramer, H. Induction and its influence on human cancer. *Pharm. Theor.* 33 (1987) 89-94.
- Roitt, I. M., J. Bronsloff y D. K. Male. *Immunology C. V. Mosby, Missouri* (1989) p. 22.
- Rojas, E., R. Montero, L. A. Herrera, M. Sordo, M. E. Gonsabatt, R. Rodriguez y P. Ostrosky-Wegman. Are mitotic index and lymphocyte proliferation kinetics reproducible endpoint in genetic toxicology testing? *Mutas. Res.* 282 (1992) 283-286.
- Rosenberg, P. y A. Kirves. Miscarriages among operating theatre staff. *Acta Anaesthesiol. Scand.* 53 (1973) 37-42.
- Rosin, M. The use of the micronucleus test on exfoliated cells to identify anti-clastogenic action in humans: a biological marker for the efficacy of chemopreventive agents. *Mutat. Res.* 267 (1992) 265-276.
- Rosin, M., S. Saad el Din Zaki, A. Ward y W. Anwar. Involvement of inflammatory reactions and elevated cell proliferation in the development of bladder cancer in schistosomiasis patients. *Mutat. Res.* 305 (1994) 283-292.
- Saffhill, R., G. P. Margison y P. J. O'Connor. Mechanisms of carcinogenesis induced by alkylating agents. *Biochem. Biophys. Acta* 823 (1985) 111-145.
- Sardas, S., H. Cuhruk, A. Karakaya y Y. Atakurt. Sister- chromatid exchanges in operating room personnel. *Mutat. Res.* 279 (1992) 117-120.
- Sarto, F., S. Finotto, L. Giacomelli, D. Mazzotti, R. Tomanin y A. Levis. The micronucleus assay in exfoliated cells of the human buccal mucosa. *Mutagenesis* 2 (1987) 11-17.
- Sarto, F., M. Tomanin, L. Giacomelli, G. Iannini y A. Cupiraggi. The micronucleus assay in human exfoliated cells of the nose and mouth: application to occupational exposures to chromic acid y ethylene oxide. *Mutat. Res.* 244 (1990) 345- 351.
- Schmal D. Carcinogenicity of anticancer drugs and especially alkylating agents. En: Schmal D. y J. M. Kaldor (Eds.) *Carcinogenicity of Alkylating Cytostatic Drugs. IARC Sci. Publ.* 78 (1986) 143-146.

- Schwartz, J. L., Bya M. J. y Wolff S. 12-O-tetradecanoyl phorbol-13-acetate (TPA) induces sister chromatid exchanges and delays in cell progression in Chinese hamster ovary and human cell lines. *Mutat. Res.* 92 (1982) 393-397.
- Schwartz J. L. Monofunctional alkylating agent-induced S-phase-dependent DNA damage. *Mutat. Res.* 216 (1989) 111-118.
- Shabin, M. y R. von Borstel. Mutagenic y lethal effects of alpha-benzene hexachloride, dibutyl phthalate and trichloroethylene in *Saccharomyces cerevisiae*. *Mutat. Res.* 48 (1977) 173-180.
- Shklar, G. Patterns of keratinization in oral leukoplakia. *Arch. Otolaryngol.* 87 (1968) 400-404.
- Simmon, V., K. Kauhanen y R. Tardiff. Mutagenic activity of chemicals identified in drinking water. *Progr. Genet. Toxicol. (Proc. Symp.)* 2 (1977) 249-258.
- Singer, B. *In vivo* formation and persistence of modified nucleosides resulting from alkylating agents. *Environ. Health Perspect.* 62 (1985) 41-48.
- Sparrow, A. H., y L. A. Schairer. Mutagenic response of *Tradescantia* to treatment with X-rays, EMS, DBE, ozone, SO, N₂O and several insecticides. *Mutat. Res.* 26 (1974) 445- 450.
- Spence, A. y R. Knill-Jones. Is there a health hazard in anaesthetics practice? *Br. J. Anaesth.* 50 (1978) 713-719.
- Speit, G., R. Dauring y K. Mehnert. Variation in the frequency of sister-chromatid exchanges in repeated human lymphocyte cultures. *Hum. Genet.* 72 (1986) 179-181.
- Stich, H. y M. Rosin. Quantitating the synergistic effect of smoking and alcohol consumption with micronucleus test on human buccal mucosa cells. *Int. J. Cancer.* 31 (1983) 305-308.
- Stich, H., A. Hornby y B. Dunn. A pilot beta-carotene intervention trial with Inuits using smokeless tobacco. *Int. J. Cancer* 36 (1985) 321-327.
- Stich, H., W. Stich y M. Rosin. The micronucleus test on exfoliated human cells, in: A. Muhammad y R. von Borstel (Eds.). *Basic and Applied Mutagenesis*, Plenum, Nueva York (1985), pp. 337-342.

- Sturrock, J. E. y J. F. Nunn. Mitosis in mammalian cells during exposure to anesthetics. *Anesthesiology* 43 (1975) 21-33.
- Sturrock, J.E. y J.F. Nunn. Synergism between halothane and nitrous oxide in the production of nuclear abnormalities in the dividing fibroblast. *Anesthesiology* 44 (1976a) 461-471.
- Sturrock, J.E. y J. F. Nunn. Effects of halothane on DNA synthesis y the presynthetic phase (G₁) in dividing fibroblasts. *Anesthesiology* 45 (1976b) 413-420.
- Sturrock, J. E. Lack of mutagenic effect of halothane or chloroform on cultured cells using the azaguanine test system. *Br. J. Anaesth.* 49 (1977a) 207-210.
- Sturrock, J. E. No mutagenic effect of enflurane on cultured cells. *Br. J. Anaesth.* 49 (1977b) 777-779.
- Subrahmanyam, N.C. y K.J. Kasha. Chromosome doubling in haploid barley by nitrous oxide and colchicine treatments. *Can. J. Genet. Cytol.* 15 (1973) 663-669.
- Subrahmanyam, N.C. y K.J. Kasha. Chromosome doubling of barley haploids by nitrous oxide and colchicine treatments. *Can. J. Genet. Cytol.* 17 (1975) 573-583.
- Sztein, M. B., W. R. Cuna y F. Kierszenbaum. *Trypanosoma cruzi* inhibits the expression of CD3, CD4, CD8 and IL-2R by mitogen activated helper and cytotoxic human lymphocytes. *J. Immunol.* 144 (1990) 3558-3562.
- Takehisa, S. Induction of sister chromatid exchanges by chemical agents. En: S. Wolff (Ed.). *Sister Chromatid Exchange*. Wiley, Nueva York (1982), pp. 87-148.
- Tannenbaum, S., y P. L. Skipper. Biological aspects to the evaluation of risk. Dosimetry of carcinogens to man. *Fund. Appl. Toxicol.* 4 (1984) S367-S373.
- Taylor, J. H., Woods P. S. y Hughes W. L. The organization and duplication of chromosomes as revealed by autoradiographic studies using tritium-labeled thymidine. *Proc. Natl. Acad. Sci. (USA)* 43 (1957) 122-128.
- Taylor, N., M. Yerson, K. Quisenberry y L. Watson. Doubling the chromosome number of *Trifolium* species using nitous oxide. *Crop. Sci.* 16 (1976) 516-518.
- Tempelaar, M. J., M. T. J. de Both y J. E. G. Versteegh. Measurement of SCE frequencies in plants: a simple Feulgen-staining procedure for *Vicia faba*. *Mutat. Res.* 103 (1982) 321-326.

- Tice, R. R., J. Chaillet y E. L. Schneider. Evidence derived from sister chromatid exchanges of restricted rejoining of chromatid subunits. *Nature* 256 (1975) 642-643.
- Tice, R. R., E. L. Schneider y J. M. Rary. The utilization of bromodeoxiuridine incorporation in to DNA for the analysis of cellular kinetics. *Exp. Cell Res.* 102 (1976) 232-236.
- Tice, R. R. y A. Hollaender. (Eds.) *Sister Chromatid Exchanges: 25 years of Experimental Research. Part A: The Nature of SCEs.* Plenum Press, Nueva York (1984).
- Tolbert, P. E., C. M. Shy y J. W. Allen. Micronuclei and other nuclear anomalies in buccal smears: methods development. *Mutat. Res.* 271 (1992) 69-77.
- Trudell, J. R. A unitary theory of anesthesia based on lateral phase separations in nerve membranes. *Anesthesiology* 46 (1977) 5-10.
- Uehleke, H., T. Werner, H. Greim y M. Kraemer. Covalent binding of haloalkanes to liver constituents, but absence of mutagenicity of bacteria in a metabolizing test system. *Mutat. Res.* 38 (1976) 114-123.
- Uehleke, H., T. Werner, H. Greim y M. Kraemer. Metabolic activation of haloalkanes and test *in vitro* for mutagenicity. *Xenobiotica* 7 (1977) 393-400.
- Vaisman, A. Working conditions in surgery and their effect on the health of anesthesiologists. *Eksp. Khir. Anesteziol* 3 (1967) 44-49.
- Van Dyke, R. y C. Wood. Binding of radioactivity from ^{14}C -labeled halothane in isolated perfused rat livers. *Anesthesiology* 38 (1973) 328-332.
- Vessey, M. Epidemiological studies of the occupational hazards of anesthesia -a review-. *Anaesthesia* 33 (1978) 430-438.
- Viola, P., A. Bigotti y A. Caputo. Oncogenic response of rat skin, lungs, and bone to vinyl chloride. *Cancer Res.* 31 (1971) 516-522.
- Vogel E. y A. T. Natarajan. The relation between reaction kinetics and mutagenic action of monofunctional alkylating agents in the higher eukaryotic systems. *Mutat. Res.* 62 (1979) 51-100.
- Vogel E. y A. T. Natarajan. The relation between reaction kinetics and mutagenic action of monofunctional alkylating agents in the higher eukaryotic systems. Interspecies comparisons. de Serres F. J. y A. Hollaender (Eds.). *Chemical Mutagens*,

- Principles and Methods** for Their Detection. Plenum Press, Nueva York, vol. 7 (1982), pp. 295-336.
- Walsh, L., A. Forsythe y J. Moore. Critique: occupational disease among operating room personnel. *Anesthesiology* 42 (1975) 608-611.
- Waskell, L. Study of the mutagenicity of anesthetics y their metabolites. *Mutat. Res.* 57 (1978) 141-153.
- Waskell, L. Lack of mutagenicity of two possible halothane metabolites. *Anesthesiology* 50 (1979) 9-12.
- Watson, J. D. y F. H. C. Crick. Molecular structure of nucleic acids. A structure for deoxiribose nucleic acid. *Nature* 171 (1953) 137-140.
- Webster, P. L. Effects of cycloheximide on mitosis in *Vicia faba* root meristem cells. *Exp. Bot.* 21 (1973) 239-244.
- Wen, W. N. y T. L. Liew. The effect of age and cell proliferation on the frequency of sister-chromatid exchange in human lymphocytes cultured *in vitro*. *Mech. Ageing Dev.* 21 (1983) 377-383.
- Werthmann, H. Chronic ether intoxication in surgeons. *Beitr. Klin. Clin.* 178 (1949) 149-156.
- White, A., S. Takehisa, E. Eger, S. Wolff y W. Stevens. Sister chromatid exchanges induced by inhaled anesthetics. *Anesthesiology* 50 (1979) 426-430.
- Widger, L., A. Gyolffy y R. van Dyke. Hypoxia and halothane metabolism *in vivo*; release of inorganic fluoride and halothane metabolite binding to cellular constituents. *Anesthesiology* 44 (1976) 197-201.
- Wiencke, J., M. Wriencke y N. Petrakis. Individual susceptibility to induced chromosome damage and its implications for detecting genotoxic exposures in human populations. *Cancer Res.* 51 (1991) 5266-5269.
- Wolff, S. Chromosome effects induced by low levels of mutagens. *Research in Photobiology*. Plenum Press, Nueva York (1977) 721-732.
- Wolff, S. Sister chromatid exchanges: the most sensitive mammalian system for determining the effects of mutagenic, carcinogenic. *Expet. Conference Oslo, Noruega* (1974) pp. 11-13.

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

- Wolff, S., B. Afzal y L. P. Brown. Cultured human lymphocytes proliferate faster in medium lacking fetal calf serum and antibiotics. *Mutat. Res.* 129 (1984) 207-213.
- Wulf, H. Modified method for demonstrating sister chromatid exchange (SCE). *Dan. Med. Bull.* 27 (1980) 35-38.
- Wyllie, A. Cell death: a new classification separating apoptosis from necrosis. En: I. Bowen y R. Lockshin (Eds.), *Cell Death in Biology and Pathology*, Chapman y Hall, Londres (1981) pp. 1-34.
- Yager, J. The effect of background variables on human peripheral lymphocytes micronuclei. *IARC Sci. Publ.* 104 (1990) 147-150.