

11202
55



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE MEDICINA
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO
HOSPITAL GENERAL DE MEXICO O.D.

ALTERACIONES INMUNOLOGICAS EN ANESTESIOLOGOS A LA EXPOSICION CRONICA DE ANESTESICOS HALOGENADOS

SECRETARIA DE SALUD
HOSPITAL GENERAL DE MEXICO
ORGANISMO DESCENTRALIZADO

286365

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

ESPECIALISTA EN ANESTESIOLOGIA

P R E S E N T A :

DRA. MARGARITA ISLAS SAUCILLO



DIRECCION DE ENSEÑANZA

TUTOR: DRA. HILDA G. JUAREZ ELIGIO
ASESOR: DR. LUIS PADIERNA OLIVOS

MEXICO, D. F.

2000



Universidad Nacional
Autónoma de México



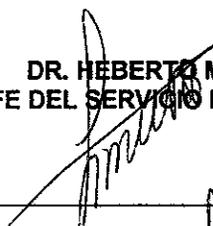
UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

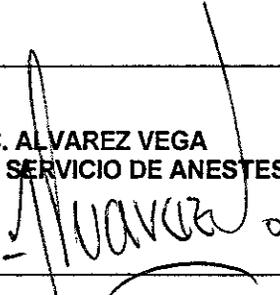
DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

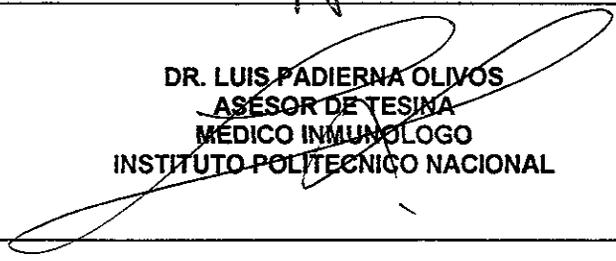
El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición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

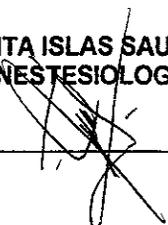
**ALTERACIONES INMUNOLOGICAS EN ANESTESIOLOGOS A LA
EXPOSICION CRONICA DE ANESTESICOS HALOGENADOS.**


DR. HEBERTO MUÑOZ CUEVAS
JEFE DEL SERVICIO DE ANESTESIOLOGIA


DR. JOSE C. ALVAREZ VEGA
JEFE DE ENSEÑANZA DEL SERVICIO DE ANESTESIOLOGIA

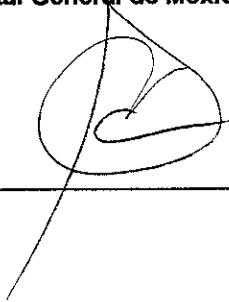

DRA. HILDA G. JUAREZ ELIGIO
TUTOR DE TESIS
**MEDICO ADSCRITO A LA UNIDAD DE QUIROFANOS CENTRALES DEL
HOSPITAL GENERAL DE MEXICO, O.D.**


DR. LUIS PADIERNA OLIVOS
ASESOR DE TESIS
MEDICO INMUNOLOGO
INSTITUTO POLITECNICO NACIONAL


DRA. MARGARITA ISLAS SAUCILLO
MEDICO ANESTESIOLOGO

**Esta tesina fue autorizada en el Departamento de Enseñanza del Hospital
General de México, O.D.**

**Por el Dr. Carlos A. García Calderas Jefe del Departamento de Postgrado del
Hospital General de México, O.D.**



A G R A D E C I M I E N T O S

**A MI PADRE
A SU MEMORIA CON TODO MI AMOR, POR SU APOYO, EJEMPLO Y
CARIÑO**

**A MI MADRE
POR SU CONFIANZA, COMPRENSIÓN Y AMOR EN TODO MOMENTO**

**A MIS HERMANOS
POR SU APOYO, AYUDA Y CARIÑO**

**A JULIA
POR COMPARTIR TODOS LOS MOMENTOS DE MI VIDA**

**A MI ESOSO
POR SU AMOR, COMPRENSIÓN Y APOYO**

A MIS COMPAÑEROS DE RESIDENCIA

**A LOS MEDICOS ANESTESIOLOGOS QUE PARTICIPARON EN LA
ELABORACION DE ESTE TRABAJO.**

TABLA DE CONTENIDO

I.	INTRODUCCION	
	A. ANTECEDENTES	3
	B. SITUACION ACTUAL	12
	C. JUSTIFICACION	16
	D. HIPOTESIS	17
	E. OBJETIVOS	17
II.	MATERIAL Y METODO	18
III.	RESULTADOS	26
IV.	DISCUSION	27
V.	CONCLUSION	29
VI.	ANEXOS	
	I. FIGURAS	
	II. CARTA DE CONSENTIMIENTO	
VII.	BIBLIOGRAFIA	30

RESUMEN

La Asamblea de los Delegados de la CLASA, consideran la Anestesiología como una especialidad de alto riesgo, por lo que consideran la creación de una Comisión Latinoamericana permanente que se ocupe del estudio del riesgo del riesgo profesional. Cohen y col., en USA efectuaron un estudio nacional en 73 496 personas; 49 585, eran miembros del personal de quirófanos, expuestos a inhalación crónica de anestésicos volátiles y 23 911 laboraban fuera del quirófano y no expuestos a anestésicos. Los investigadores encontraron 6.9% de anomalías congénitas en hijos de personal de quirófano y sólo 3% de personal fuera de quirófanos.

Los numerosos estudios publicados sobre la contaminación de los quirófanos e inhalación crónica de anestésicos volátiles, evidenciaron que el grupo laboral de los anestesiólogos, una mayor incidencia de cefalea, fatiga, irritabilidad, agresividad, alteraciones perceptivas, cognitivas y motoras, padecimientos infecciosos por la inmunosupresión que producen los anestésicos inhalados, incremento en el riesgo de presentar aborto espontáneo y en la incidencia de anomalías congénitas en sus hijos, de mayor frecuencia en las anesthesiólogas

Se trata de un ensayo clínico controlado (observacional, analítico, transversal, prospectivo, longitudinal, explicativo). Se estableció un universo de trabajo formado por médicos anestesiólogos que laboran en la unidad

203 de quirófanos centrales del Hospital General de México de la S. S. La muestra obtenida fue de 26 médicos anestesiólogos en total que cumplieron los criterios de inclusión y de los cuales se formaron: un grupo control de 8 médicos residentes de nuevo ingreso sin exposición previa anestésicos halogenados y tres grupos en forma aleatoria, siendo el grupo I los médicos anestesiólogos de 1er. Año de residencia con un año de exposición previa a anestésicos halogenados, el grupo II formado por médicos anestesiólogos de 2° año de residencia, el grupo III formado por médicos anestesiólogos de base. Cuando se llevó a cabo la cuantificación de linfocitos T y linfocitos B por la técnica de rosetas la cual nos da una imagen no tan solo de numerosos linfocitos circulantes, sino también de funcionalidad, al llevar a cabo una interacción dinámica entre el linfocito y el eritrocito de carnero solo o sensibilizado no se puede visualizar ninguna alteración, menos aún pudimos observar algún cambio importante cuando se lleva a cabo la cuantificación de las subpoblaciones de linfocitos T por la técnica de anticuerpos monoclonales por inmunofluorescencia indirecta. En este trabajo investigamos la funcionalidad de la respuesta inmune celular por la técnica de LIF, no encontrando diferencia significativa. Por lo que debemos considerar que debemos utilizar ensayos genéticos más específicos para poder dilucidar si los anestésicos tienen un papel relevante en las alteraciones genéticas que se han presentado en anestesiólogos, como también poder utilizar otro tipo de células en los ensayos (células germinales).

I. INTRODUCCION

A. ANTECEDENTES:

Se reconoce desde hace algún tiempo la existencia de riesgos sanitarios en muchos sectores de actividad; sin embargo hasta la última década empezaron a publicarse datos en el sentido de que la exposición crónica a niveles residuales de gases anestésicos en el quirófano pueda constituir también un riesgo sanitario asociado a la práctica médica.

En 1920 Hamilton, describía una intoxicación por éter caracterizada por una serie de síntomas gastrointestinales y del SNC, en un grupo de investigadores que había sido expuesto a vapores de éter mientras fabricaban pólvora durante la primera guerra mundial. Y en 1940 se comunicó el de un cirujano, una enfermera y un anestesista. A principios de la década de 1960 varios investigadores estudiaron la toxicidad producida por los agentes anestésicos en tejidos humanos no nerviosos. La exposición crónica a niveles analgésicos de Oxido Nitroso, provocaban una depresión de la médula ósea dependiendo de la dosis. En 1968 una revisión de las causas de muerte entre anesthesiólogos, para un periodo de 1948-1967 demostró una elevada tasa de mortalidad por tumores malignos del sistema linfático y del S.R.E. (2,4,5).

En reportes recientes, es señalado por varios autores, las posibles alteraciones de la respuesta inmune en el personal paramédico, que está expuesto crónicamente a pequeñas cantidades de anestésicos inhalados (líquidos, halogenados y gases), como en el Oxido nitroso, halotano, enflurano, isoflurano, que polucionan en el área quirúrgica, dando lugar a una variada patología, en las que las neoplasias, defectos congénitos y hepatopatías parecen ocupar los primeros lugares. (1,2,3,5,6).

En intereses de los defectos inhibitorios de la división celular, aumentó de súbito después de Jenssen y Cols. En 1956, descubrieron anemia aplásica en pacientes con tétanos que fueron sometidos a régimen de inhalación de N₂; en donde los casos mortales de mielopoyesis habían cesado. Estudios posteriores determinaron que actúa sobre la médula ósea por inhibición de la C-mitosis; el 0.45% de vapor de halotano, produce gran inmunocitopenia, observándose en el organismo una respuesta que dependiendo del tipo de anestésico usado es evidente que queda un sin número de alteraciones producidas por la anestesia, entre ellas la respuesta inmune, como resultado de ello se postulan la génesis del cáncer siendo esto irrefutable preocupación para el anesthesiólogo. (1,4,7,8)

Algunos experimentos comenzaron a realizarse en 1966 a través de encuestas epidemiológicas efectuadas por médicos anesthesiólogos y otras especialidades, en las que se hizo aparente que existía mayor frecuencia de

infertilidad no voluntaria, abortos espontáneos y productos con malformaciones congénitas. Y esto dio origen a estudios experimentales, en los que se sometió a algunos animales de laboratorio a condiciones de exposiciones similares a las del anestesiólogo, observándose el efecto de tales sustancias sobre dichos animales y sus descendientes. Aún cuando en tales experimentos las concentraciones de Halotano y Oxido Nitroso fueron variables, los descendientes de los animales abortados presentaron mayor número de malformaciones esqueléticas en vértebras y costillas, paladar hendido y muy bajo peso al nacer. (9,11,12)

Estudios en diferentes países sugieren que el trabajo en el quirófano está asociado a un incremento en el índice de malformaciones congénitas en los hijos y mala salud en los anestesiólogos. Han sido ampliamente discutidos y todavía no se ha establecido, si estos son los resultados de la exposición y contaminación de gases residuales, stress, infecciones, fatiga, disturbios hormonales y diabéticos, población seleccionada, exposición a vapores solventes, exposición a rayos X, citostáticos y otras causas. (1,9,15)

Algunos estudios en animales se han demostrado, en experimentos animales, la teratogenicidad de muchos agentes anestésicos inhalados. En un estudio en ratón se demostró que la exposición crónica de residuos de halotano combinado con oxido nitroso, en una exposición similar a la usada en anestesia quirúrgica puede tener efectos adversos sobre los procesos reproductivos.

Quizás lo más importante de éste estudio, es que, demostró un efecto sobre los cromosomas masculinos en vivo. La exposición de ratas hembras a esta combinación resulta de disminución de la ovulación y en la eficiencia de la implantación en el nivel más bajo de exposición (halotano 1 ppm además óxido nítrico 50 ppm), así como a un nivel más alto. Un leve retraso en el desarrollo, fue visto en los fetos de las ratas embarazadas expuestas, del 6° al 15° día de gestación, sin embargo no fue mayor el efecto teratogénico. Es evidente que el efecto sobre la gestación indica que parece estar determinado por la exposición de la hembra, no hay efectos mutagénicos dominante fetal sobre las hembras antes del apareamiento. En las células germinales se comprobó el efecto tóxico de los agentes anestésicos inhalados; así en ratas macho LWK/Fj Møl Kripe multinucleadas en los espermatozoides, y se planteó podría causar daño genético. (9,13,14,18,19). Debe ser marcado que el efecto citogénico fue visto después de un largo periodo de exposición. Una importante disminución en la ganancia de peso fue vista en hijos masculinos de hembras expuestas antes y durante el embarazo a altas concentraciones en la combinación halotano y óxido nítrico. Importantes incrementos en el número de animales y el número de células por animal con aberraciones cromosomales fueron observadas en ambos grupos de ratas masculinas expuestas a la mezcla de halotano y óxido nítrico. Este efecto fue visto en médula ósea y en células espermátogonias, este es el primer reporte de daño cromosomal de agentes combinadas en experimento en vivo. (7,13,15,20,21)

Como ya se mencionó anteriormente las concentraciones de gases anestésicos medidos en las salas de operaciones pueden variar cientos de partes por millón (ppm). Existiendo diferencias dentro de la misma sala, así como en los sistemas de ventilación. Se reportan 15 ppm de halotano, y en quirófanos antiguos con mecanismos de ventilación deficientes, desde 85 hasta 300 ppm del halogenado. Este agente de uso tan frecuente ha sido detectado en el ambiente respirado por anesthesiólogos, y estas concentraciones residuales pueden identificarse hasta 16 horas de la exposición. (17).

LOS CROMOSOMAS

Al comenzar a hablar del material genético, es necesario que hablemos también de los cromosomas, localizados en el núcleo de las células eucarióticas y constituidos principalmente por ácido desoxirribonucleico (DNA) y unas proteínas asociadas a éste, llamadas histonas. Estos cromosomas son el material genético encargado de transmitir por generaciones la información de las funciones que deberá realizar la célula durante toda su existencia.

Los cromosomas son cuerpos filiformes que durante la división celular, se contrae haciéndose más gruesos y cortos, en ellos se puede distinguir un centrómero y dos brazos cromosómicos o cromátides hermanas.

Dependiendo de la posición del centrómero, los cromosomas se clasifican como sigue:

1. **METACENTRICOS** :Cuando los brazos de las cromátides tienen casi la misma longitud, esto es: el centrómero está casi a la mitad del cromosoma.
2. **ACROCENTRICO**: Cuando los dos brazos tienen una longitud diferente, es decir el centrómero está más cerca de un extremo del cromosoma.
3. **TELECENTRICOS**: Cuando hay un solo brazo claramente distinguible de cada cromátide y aquí el centrómero del cromosoma. Ver figura 1.
4. **SUBMETACENTRICOS**: Cuando el extremo de las dos cromátides es ligeramente más corto que los otros; así el centrómero se encuentra desplazado ligeramente del centro del cromosoma.

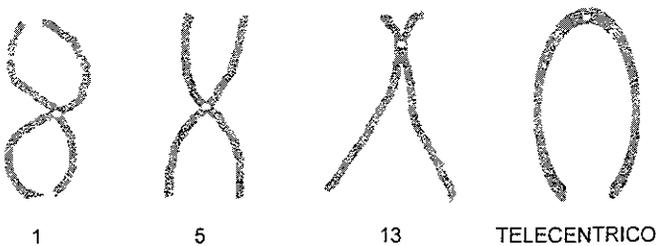


FIGURA 1. CROMOSOMAS HUMANOS 1,5 Y 13, QUE SON RESPECTIVAMENTE EJEMPLO DE CROMOSOMAS METACENTRICOS, SUBMETACENTRICOS Y ACROCENTRICOS. LOS CROMOSOMAS TELECENTRICOS NO EXISTEN EN LOS HUMANOS

INTERCAMBIO DE CROMATIDES HERMANA

Existen en citogenética varias técnicas que permiten observar el daño que provocan diversos agentes sobre los cromosomas, esto, es daño sobre el DNA o defectos mutagénicos. Entre estas técnicas podemos mencionar la búsqueda y detección de aberraciones cromosómicas, la detección de micronúcleos, la determinación de la frecuencia de intercambios de cromátides hermanas (ICHs). Todas aquellas se realizan con cultivos celulares ya sea de vegetales o de animales incluyendo al hombre. Otras técnicas como la detección de revertantes se realizan en cultivos bacterianos (7,12).

Puesto que el presente trabajo se utiliza la técnica de intercambio de cromátides hermanas (ICHs), revisaremos sus principales características.

Para hablar de ICHs, debemos mencionar que estos son observados gracias a un método de tinción diferencial de las dos cromátides de los cromosomas. Esta metodología se comienza a aplicar desde el momento en que se inicia el cultivo celular; incorporando en el medio una base análoga a la timina y que se conoce como 5-bromo desoxiuridina (BrdU); pasados dos ciclos de replicación celular BrdU, se ha incorporado al DNA cromosómico y las células quedan listas para el proceso de tinción diferencial con los colorantes Hoescht 33258 y Giemsa.

Una vez teñidas, las células en metafase presentan sus cromosomas con diferente intensidad de coloración en las dos cromátides.

Esta diferencia de intensidad de coloración en las dos cromátides de cada cromosoma es debida a que en la doble cadena ADN de una cromátide se encuentra incorporada la base análoga BrdU (cromátide clara), mientras que en la otra cromátide de la base análoga, solo se ha incorporado en una sola hebra de ADN (cromátide oscura). Así esta metodología nos permite observar intercambios de fragmentos simétricos entre las dos cromátides hermanas a las cuales se les denomina ICHs (Intercambio de Cromátides Hermanas) Ver.figura 2.

Por otra parte se ha observado que al agregar a cultivos de linfocitos (en los cuales se aplica esta metodología) distintos agentes mutagénicos y carcinogénicos, el número de ICHs se incrementa considerablemente; comparado con cultivo testigo donde la incidencia de ICHs es relativamente constante entre los individuos y es independientemente de la edad y sexo, dando una frecuencia de ICHs de entre 5 y 9 por célula en metafase. (16,21).

El aumento de ICHs como consecuencia del daño producido por el agente sobre el ADN, demostró que la medición de este parámetro es el índice más sensible para detectar daño sobre el material genético y comparado con las pruebas estandar de búsqueda de aberraciones cromosómicas, resultó ser alrededor de 100 veces más sensible. (16,21).

Los ICHs se han asociado a mutación, puesto que al haber un intercambio de material de una cromátide a otra puede decirse que ha existido una ruptura o lesión del material genético (ADN). Y también esta combinación de ADN de cadenas madre con cadenas hijas, por un proceso de reparación, puede acarrear como se ha demostrado en bacterias una mutación debida a deleción o inserción de bases a la hebra de ADN. (16,21).

Todo lo anterior nos indica que el estudio de los ICHs químicamente inducidos, además de ser muy sensibles y relativamente rápido y sencillo, es un método eficaz para detectar agentes que dañan a los cromosomas, esto es al ADN. (16,21).

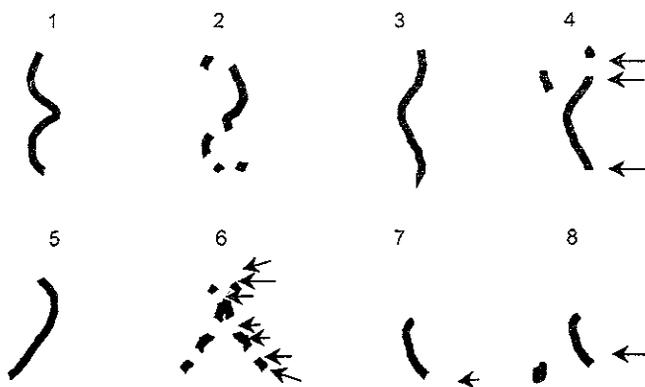


FIGURA 2 INTERCAMBIO DE CROMATOIDES HERMANAS
 LOS CROMOSOMAS 1,3,5 Y 7 ; NO PRESENTAN ICHs. Y LOS
 CROMOSOMAS 2,4,6 Y 8; PRESENTAN 4,3,9, Y 1 ICHs
 RESPECTIVAMENTE ESTOS SEÑALADOS CON FLECHAS.

B. SITUACION ACTUAL

El hombre ha estado constantemente expuesto a fuerzas físicas, compuestos químicos y agentes biológicos, que dependiendo de su naturaleza y concentración en el ambiente, pueden llegar a ser tóxicos. La evolución que el género humano tiene, se debe en parte a su gran capacidad de adaptación a un ambiente en constante cambio. Esta capacidad de adaptación ha sido desafiada en los últimos años por una enorme y variada cantidad de agentes.

En 1973, en Bolivia, durante la VII Asamblea de Delegados de la CLASA, se creó la "Comisión para el estudio de los riesgos profesionales del anestesiólogo", comisión integrada por un representante de Argentina, uno de Bolivia y uno de México.

En Quito, Ecuador, en 1975 durante la VIII Asamblea de la CLASA basados en una amplia bibliografía mundial, recolectada por la comisión, los Congresistas concluyeron que los Riesgos Profesionales del Personal que labora en los quirófanos, se divide en cuatro grupos:

- I. Riesgos ocasionados por inhalación crónica de anestésicos volátiles residuales que existen en el ambiente de los quirófanos.

- II. **Riesgos ocasionados por infecciones transmitidas por los pacientes al personal que los atiende.**

- III. **Riesgos por agentes físicos, químicos y biológicos manejados en los quirófanos.**

- IV. **Riesgos ocasionados por la naturaleza del trabajo del anestesiólogo, principalmente, por estrés y el cansancio.**

De 1949 a 1976 los numerosos estudios publicados sobre la contaminación de los quirófanos e inhalación crónica de anestésicos volátiles, evidenciaron en el grupo laboral de los anestesiólogos, una mayor incidencia de cefalea, fatiga, irritabilidad, agresividad, alteraciones perceptivas, cognocitivas y motoras, padecimientos infecciosos por la inmunosupresión que producen los anestésicos inhalados, incremento en el riesgo de presentar aborto espontáneo y en la incidencia de anomalías congénitas en sus hijos, de mayor frecuencia en las anestesiólogas; mayor porcentaje de padecimientos hepáticos, renales y neoplásicos, sobre todo en el tejido linfático y reticuloendotelial, así como mayor incidencia de infartos cardiacos, suicidios y accidentes automovilísticos como causa de muerte.

En la mayoría de los países del primer mundo, a partir de 1976, las salas de operaciones se construyen con extractores potentes, eficientes y silenciosos, que recambian el volumen de aire, de 15 a 20 veces por hora, y no se permite que funcionen los aparatos de anestesia si no tienen instalada una válvula de evacuación de gases al exterior o al sistema de extracción, ya que esta perfectamente demostrado que con estos dispositivos se eliminan del ambiente el 90% de los vapores y gases residuales.

Sin embargo en nuestro país y prácticamente en toda Latino América, los anesthesiólogos no podemos considerar que la contaminación haya sido resuelta, por lo que seguimos siendo afectados por ella, pues según los muestreos estadísticos efectuados en México, Argentina, Brasil y Colombia aproximadamente del 96 al 98% de los quirófanos Latino-Americanos, (en algunos países el 100%) no cuentan con extractor de aire ya que las leyes Sanitarias no lo exigen y en los aparatos de anestesia no se instala válvula de evacuación de gases, por ser más baratos si no tienen este dispositivo.

En México solo los centros hospitalarios de las grandes ciudades están correctamente equipados, pero los numerosos hospitales de la provincia Mexicana carecen de estos dispositivos de seguridad, por lo menos la gran mayoría.

Los residuos de óxido nitroso y anestésicos halogenados, en ausencia de sistemas de evacuación y extracción, pueden alcanzar concentraciones de 3000 y 50 p.p.m. respectivamente o más.

El NIOSH (Instituto Nacional de Salud y Salubridad Ocupacional de USA) recomienda como límites superiores en el ambiente de los quirófanos, 25 p.p.m. de óxido nitroso y 2 p.p.m. para los anestésicos halogenados.

Estas recomendaciones sólo son alcanzadas con una máquina de anestesia absolutamente hermética, con un buen extractor que recambie el volumen del aire del quirófano 20 veces por hora, y una válvula de evacuación efectiva.

B. JUSTIFICACION

La anestesia general puede definirse como “el estado en el cual el organismo es insensible al dolor y posiblemente a otro tipo de estímulo”.

Fue durante la 1ª Guerra Mundial, con la fabricación de la pólvora cuando aparecieron los síntomas de envenenamiento por éter. Se observaron efectos adversos a largo plazo de la exposición laboral a pequeñas concentraciones de gases anestésicos residuales; algunos presentaban cefalea, depresión, anorexia, fatiga excesiva y pérdida de la memoria; los cuales desaparecieron al ausentarse del quirófano o con la ventilación adecuada. A los fines de la década de los 60s, se observó que además del riesgo anestésico del paciente, había un riesgo para la salud del personal de quirófano.

Durante muchos años se consideró que los anestésicos inhalatorios eran fármacos inertes, con eficacia terapéutica. Actualmente se sabe que se metabolizan in vivo y son precisamente sus metabolitos los responsables de los casos de toxicidad aguda y crónica; cuatro son los mecanismos de toxicidad de los anestésicos inhalatorios con lesión de los tejidos:

- a) La acumulación intracelular de metabolitos en cantidades tóxicas.
- b) La captación de los haptenos capaces de iniciar respuesta inmunológica

o de hipersensibilidad sistémica.

- c) La producción de metabolitos intermedios reactivos.
- d) La reacción fisicoquímica del óxido nítrico en la vitamina B12.

C. HIPOTESIS.

Sí estudios clínicos han sugerido que los anestésicos inhalatorios (Halotano, Enflurano e Isoflurano), tienen efecto depresor sobre la respuesta inmune y posee un efecto mutagénico, entonces esperamos encontrar en nuestro estudio una depresión de la respuesta inmune después de la exposición a anestésicos inhalatorios (Halotano, Enflurano e Isoflurano), así como también de efectos genéticos.

D. OBJETIVOS.

1. Identificar los efectos de la exposición crónica y continua de anestésicos inhalatorios (Halotano, Enflurano e Isoflurano), sobre la respuesta inmune y alteraciones genéticas en Anestesiólogos.

2. **Evaluar la respuesta inmune mediada por células, en médicos Anestesiólogos, antes de la exposición a anestésicos inhalatorios (Halotano, Enflurano e Isoflurano), y después de la exposición de estos (8 a 10 meses).**

3. **Detectar si existen alteraciones genéticas (medido por intercambio de cromátides hermanas) antes y después de la exposición a anestésicos inhalatorios (Halotano, Enflurano e Isoflurano), en forma crónica y continua.**

II. MATERIAL Y METODOS.

El presente estudio se llevo a cabo en los diferentes quirófanos del Hospital General de México de la S.S., donde se realizan una selección al azar de 20 médicos Residentes de Anestesiología y 6 médicos de base de Anestesiología.

- a) **Se estudiaron las poblaciones linfocitarias en sangre periférica (venosa), LIF, antígenos ubicuos e intercambio de cromátides hermanas, en el grupo control que fueron 8 médicos residentes de nuevo ingreso, y que no había tenido contacto con agentes anestésicos inhalatorios (Halotano, Enflurano e Isoflurano). Y se realizó una nueva toma de sangre periférica**

2. Evaluar la respuesta inmune mediada por células, en médicos Anestesiólogos, antes de la exposición a anestésicos inhalatorios (Halotano, Enflurano e Isoflurano), y después de la exposición de estos (8 a 10 meses).

3. Detectar si existen alteraciones genéticas (medido por intercambio de cromátides hermanas) antes y después de la exposición a anestésicos inhalatorios (Halotano, Enflurano e Isoflurano), en forma crónica y continua.

II. MATERIAL Y METODOS.

El presente estudio se llevo a cabo en los diferentes quirófanos del Hospital General de México de la S.S., donde se realizan una selección al azar de 20 médicos Residentes de Anestesiología y 6 médicos de base de Anestesiología.

- a) Se estudiaron las poblaciones linfocitarias en sangre periférica (venosa), LIF, antígenos ubicuos e intercambio de cromátides hermanas, en el grupo control que fueron 8 médicos residentes de nuevo ingreso, y que no había tenido contacto con agentes anestésicos inhalatorios (Halotano, Enflurano e Isoflurano). Y se realizó una nueva toma de sangre periférica

a los 8 meses posteriores a su ingreso.

Y en los grupos problema, tan solo se llevó a cabo el estudio de intercambio de cromátides hermanas y los grupos se formaron de la siguiente manera:

- GRUPO I. Integrado por 6 médicos residentes de primer año de Anestesiología, del H.G.M. de la S.S., con una edad x de 27.6 años y un año de exposición a anestésicos inhalatorios (Halotano, Enflurano e Isoflurano).

 - GRUPO II. Integrado por 6 médicos residentes de 2° año de Anestesiología, de H.G.M. de la S.S., y con una edad x de 32.8 años de edad y 3 años de exposición promedio a agentes anestésicos.

 - GRUPO III. Formado por 6 médicos Anestesiólogos de base, del H.G.M., de la S.S., con una edad x de 31.8 y x de exposición de 5.1 años a anestésicos inhalatorios.
- b) Toma de muestras: a cada médico se le tomó una muestra de 20 ml de sangre venosa periférica heparinizada, en una sola ocasión al grupo ya expuesto y dos tomas al grupo de control.

TECNICAS DE POBLACION LINFOCITARIAS.

Se tomó muestra de 10 ml, de sangre heparinizada, posteriormente se procedió a añadir un volumen de gelatina al 3% por cuatro volúmenes de sangre y colocar en posición inclinada dentro de un incubador a 37°C para permitir su sedimentación. Una vez que los eritrocitos sedimentados, se tomó el plasma sobrenadante rico en leucocitos para distribuirlos en un par de tubos de 13X100 mm con tapón, a los cuales se les añadieron 0.4 gr., de hierro coloidal y se les incubó durante 30 minutos en baño María a 37 °C con agitación frecuente, con el fin de mantener en suspensión las partículas de hierro. Una vez transcurrido los 30 min. De incubación, se procede a retirar el hierro coloidal con la ayuda de un magneto. Este procedimiento permite eliminar las células fagocitarias. Posteriormente se colocaron dos volúmenes de plasma sobre un volumen de Focoll-hypaque (d = 1.77 g/ml) y se centrifugó a 400 G con la finalidad de separar los linfocitos que se podrían tomar de la interfase formada entre el Focoll-hypaque y el plasma. Después de lavar las células en 3 coacciones, se contó la concentración de ellas, haciendo una dilución con azul de tripano al 0.1%, lo cual permite checar la viabilidad, se ajustó a 4×10^6 células/ml.

Inmunofluorescencia: para la identificación de las poblaciones celulares, se utilizaron anticuerpos monoclonales murinos (Mab) (Ortho Diagnostic Systems Raritan, New Jersey), las células T cooperadoras/inductores (OKT

4), células T supresoras/citotóxicas (OKT 8), una vez que las células fagocíticas fueron eliminadas por el tratamiento con hierro coloidal se siguió una técnica de inmunofluorescencia indirecta que utilizó laminillas (Multitest Slides Flow Laboratories). Se colocaron 50 microlitros de Poli-1-lisina (Sigma Chemical, Co., St Louis Mo.) a 2 mg/ml en cada pozo y se dejó incubar a temperatura ambiente por 30 min. Entonces se añadieron 20 microlitros de la suspensión celular que se fijó posteriormente con formaldehído al 1% en buffer salina fosfatos, para añadir cada pozo (excepto una), con uno de los diferentes anticuerpos y después añadir un anticuerpo policlonal de cabra, anti-anticuerpo de ratón conjugado a isotiocianato de fluoresceína (Ab-FITC) a todos los pozos.

ANTICUERPOS MONOCLONALES UTILIZADOS EN EL ESTUDIO

Ma	+	CD ++	PM +++	Características +++++
OTK	4	CD 4	60 000	Inmunoglobulinas de subclase IgG 2B. Identifica linfocitos T humanos con función inductora/cooperadora.
OKT	8	CD 8	31 000	Inmunoglobulinas de subclase IgG 2 A. Identifica linfocitos T humanos con función supresora/citotóxica.

- + Anticuerpos monoclonales (Ortho Diagnostic Systems)**
- ++ Antígenos de diferenciación**
- +++ Peso molecular del Ag (antígeno) reconocido por el Mab**
- ++++ Células que aportan el Ag reconocido por el Mab y clase de Inmunoglobulinas que es el Mab.**

Posteriormente se procedió a aplicar glicerol al 50% y cubrir con cubreobjetos. Al leer en un microscopio de luz ultravioleta se verificó primero la ausencia de fluorescencia en el pozo de testigo que no recibió Mab, pero si el conjugado, contándose entonces el número de células fluorescentes entre un mínimo de 200 células por pozo, obteniéndose así los números porcentuales correspondientes a cada población celular.

Determinación de linfocitos T y B por el método de Rosetas (E y EAC). Los linfocitos se separaron en un gradiente de Ficoll-hypaque, densidad de 1.0077 \pm 0.001 g/ml., centrifugarlo a 400 G durante 30 minutos, se ajustaron a 4×10^6 /ml.

Determinación de linfocitos "T" (rosetas E), 0.25 ml., de la suspensión se mezclaron con 0.25 ml de eritrocitos de carnero (E) al 0.1%, se centrifugaron a 200G por 3 minutos y se colocaron en refrigerador durante 18 hrs.

Determinación de linfocitos "B" (rosetas EAC); a 0.25 ml., de eritrocitos

tratados con hemólisis (IgM) y complemento humano, se agregaron 0.25 ml., de la suspensión linfoide, se centrifugó a 200 G por 3 minutos a temperatura ambiente. En ambos casos (rosetas E y EAC) se colocaron entre porta y cubreobjetos y se tomaron como linfocitos "T" o "B" respectivamente a las células que se tenían adosadas al menos tres eritrocitos en su superficie.

Factor Inhibidor de linfocitos (LIF). La determinación se realizó obteniéndose el paquete leucocitario, proveniente de 10 ml., de sangre venosa periférica heparinizada. Las células se separaron del plasma por centrifugación a 400 G durante 10 minutos. La suspensión celular se ajustó a 4×10^7 células/ml y se empaquetó por centrifugación en capilares; después se cortó con interfase y se colocó en cámara de Bloom, fijándose con grasa de silicón. Una cámara se llenó de Medio Mínimo Esencial (MME), y la otra con MME y 0.01 ml, de antígeno de prueba (Tricofitina, PPD, Candidina y Varidasa), La lectura se realizó después de 24 a 48 hrs. , proyectando el perfil de la migración sobre una hoja de papel con la ayuda de una ampliación fotográfica. El cálculo de la inhibición se realizó mediante la siguiente fórmula:

$$LIF = 100 \frac{\text{Peso promedio de las áreas de migración con Ag}}{\text{Peso promedio de las áreas de migración sin Ag}}$$

METODOLOGIA DE INTERCAMBIO DE CROMATIDES HERMANAS

a) Siembra: para el cultivo de linfocitos se tomó una muestra de sangre venosa total de un médico residente de nuevo ingreso clínicamente sano, sin antecedentes de infecciones vírales previas al estudio.

Se sembraron dos frascos de cultivo por dosis. Cada frasco de cultivo contiene: 0.5 ml, de sangre venosa periférica, 8 ml de medio de McCoy 5ª modificado (in Vitro) y 0.5 ml de fitohemaglutinina. Los cultivos se incubaron a 37 °C y a las 24 horas se añadieron 45 microlitros de 5-bromo-2 desoxiuridina (BrdU) (sigma) y se continuó con la incubación una hora más.

b) Cosecha: a las 72 hrs se centrifugaron los cultivos 10 minutos a 1 500 r.p.m., a continuación se eliminó el sobrante y se resuspendió el paquete celular con 7 ml de solución hipotónica de KCL 0.075 ml a 37 °C.

Después de los 15 minutos, centrifugar y eliminar el sobrenadante, se resuspendió nuevamente el paquete celular y se añadieron 7 ml de solución fijadora de metanol-ácido-acético 3:1, dejándolos reposar a temperatura ambiente 15 minutos, luego se centrifugó y se eliminó el sobrenadante con el objeto de hacer otros dos cambios de fijador.

- c) Preparación de laminillas:** en el tubo con suspensión celular se dejó una cantidad adecuada de fijador, se resuspendieron las células y en portaobjetos previamente desangrados se dejaron tres gotas de la suspensión a una distancia de 20 cm., aproximadamente. Las laminillas se secaron al aire y se dejaron madurar por 2 días antes del siguiente paso.
- d) Tinción:** las laminillas se tiñeron con colorantes fluorocromo bisbenzidina Hoeschst 33258 (sigma) (100 mg/ml) por 40 minutos, se lavaron con agua de la llave y se secaron a 60 °C por 15 minutos. Se colocaron en buffer de citrato fosfato pH 7.0, las laminillas se expusieron a luz negra por 40 minutos, se lavaron y se secaron 30 minutos a 60 °C. Finalmente se efectuó otra tinción con colorantes Giemsa al 4% (2ml de Giemsa, 5 ml de buffer de fosfato pH 6.4 y 43 ml de agua destilada) por 15 minutos.
- e) Análisis de laminillas:** se contaron los intercambios de cromátides hermanas en 30 metafases de segunda división.

III. RESULTADOS

Los resultados obtenidos en la cuantificación de linfocitos T y linfocitos B, por la técnica de rosetas en personas no expuestas a anestésicos inhalatorios y 8 a 10 meses después de la exposición, no se encontró una diferencia estadísticamente significativa. Figura 1 y 2.

La cuantificación de linfocitos T cooperadores cuantificados por inmunofluorescencia en estos mismos grupos, no se encontró ninguna diferencia estadísticamente significativa. Figura 3 y 4.

En cuanto a la relación linfocítica T cooperadora-linfocitos T supresor, tampoco se encontró una diferencia estadísticamente significativa. Figura 5.

En las pruebas de funcionalidad, estas medidas por LIF a tricofitina, PPD, Candidina y Varidasa; el porcentaje de positividad antes de la exposición y después de esta se encuentra muy similar. Figura 6.

En cuanto a intercambio de cromátides hermanas, no se mostró un cambio estadísticamente significativo al comparar los diferentes grupos estudiados. Figura 7.

Cuando se efectuó este mismo estudio en personas antes y después de la exposición a anestésicos inhalatorios (8 a 10 meses), no se encontró cambios estadísticamente significativos en forma individual. Figura 8 y por grupo Figura 9.

IV. DISCUSION

Con los antecedentes de los diversos daños que causan los anestésicos inhalatorios en el ser humano, en sus diferentes esferas de la homeostasis, nosotros esperamos encontrar alteraciones tanto inmunológicas como genéticas en los diferentes grupos estudiados en cuanto a tiempos diferentes de exposición, así como antes y después de ésta en anesthesiólogos, los cuales conviven en esferas contaminadas. Sin embargo cuando se llevo a cabo la cuantificación de linfocitos T y Linfocitos B por la técnica de rosetas la cual nos da una imagen, no tan sólo de números de linfocitos circulantes, sino también de funcionalidad, al llevar a cabo una interacción dinámica entre el linfocito y el eritrocito de carnero solo o sensibilizado.

No se puede vislumbrar ninguna alteración, menos aún pudimos observar algún cambio importante cuando se lleva a cabo la cuantificación de las

Cuando se efectuó este mismo estudio en personas antes y después de la exposición a anestésicos inhalatorios (8 a 10 meses), no se encontró cambios estadísticamente significativos en forma individual. Figura 8 y por grupo Figura 9.

IV. DISCUSION

Con los antecedentes de los diversos daños que causan los anestésicos inhalatorios en el ser humano, en sus diferentes esferas de la homeostasis, nosotros esperamos encontrar alteraciones tanto inmunológicas como genéticas en los diferentes grupos estudiados en cuanto a tiempos diferentes de exposición, así como antes y después de ésta en anesthesiólogos, los cuales conviven en esferas contaminadas. Sin embargo cuando se llevo a cabo la cuantificación de linfocitos T y Linfocitos B por la técnica de rosetas la cual nos da una imagen, no tan sólo de números de linfocitos circulantes, sino también de funcionalidad, al llevar a cabo una interacción dinámica entre el linfocito y el eritrocito de carnero solo o sensibilizado.

No se puede vislumbrar ninguna alteración, menos aún pudimos observar algún cambio importante cuando se lleva a cabo la cuantificación de las

subpoblaciones de linfocitos T por la técnica de anticuerpos monoclonales por inmunofluorescencia indirecta.

En trabajos previos se llevó a cabo el estudio de la funcionalidad de la respuesta inmune celular, éstas medidas por intradermorreacción anticuerpos ubicuos (PPD, tricofitina, Candidina y Varidasa), se observó una disminución de la reactividad a estos antígenos. Nosotros en este trabajo investigamos la funcionalidad de la respuesta inmune celular por la técnica de LIF a estos mismos antígenos antes y después de la exposición de anestésicos inhalatorios no encontramos diferencia significativa, consideramos que ésta técnica no nos mostró resultados ya que dentro de su metodología se debe llevar a cabo el lavado de las células linfoides a estudiar. Y con esto se pudo haber eliminado elementos que participaron en el bloque de la respuesta inmune celular. Con lo que respecta a la valoración genética por intercambio de cromátides hermanas en donde no encontramos cambios significativos y teniendo en cuenta los elementos carcinogénicos, teratógenos y abortos espontáneos en anesthesiólogos, consideramos que deben utilizarse ensayos genéticos más específicos para poder dilucidar si los anestésicos tienen un papel relevante en las alteraciones genéticas que se han presentado en anesthesiólogos, como también, poder utilizar otro tipo de células en los ensayos, por ejemplo, células germinales.

V. CONCLUSIONES

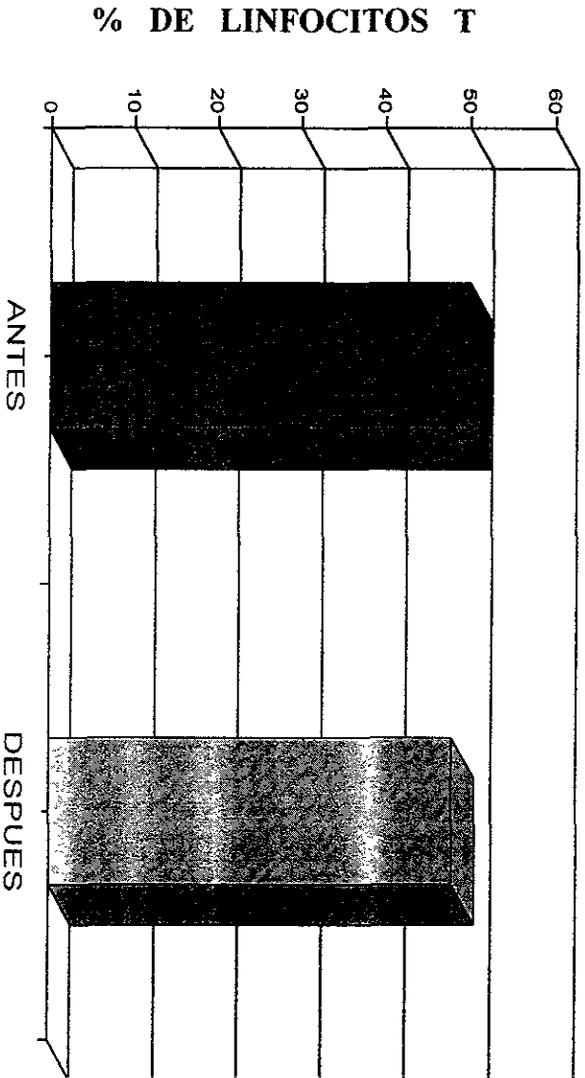
- 1. En los estudios inmunológicos que se llevaron a cabo en este trabajo no podemos concluir que los agentes anestésicos causen algún daño directo sobre la respuesta inmune estudiada bajo las técnicas utilizadas.**
- 2. En cuanto a los elementos genéticos no se demostró que los agentes anestésicos lleven alteraciones de esta índole.**
- 3. Es recomendable que diferentes estudios sobre los tópicos tocados en esta tesis deban de seguirse estudiando por diferentes metodologías para poder demostrar si es o no un elemento tóxico y de riesgo profesional a las concentraciones a las cuales vive el anestesiólogo en su trabajo diario, esto debe ser considerado para mejorar sus condiciones de trabajo.**

ANEXOS

ANEXO I

FIGURA 1

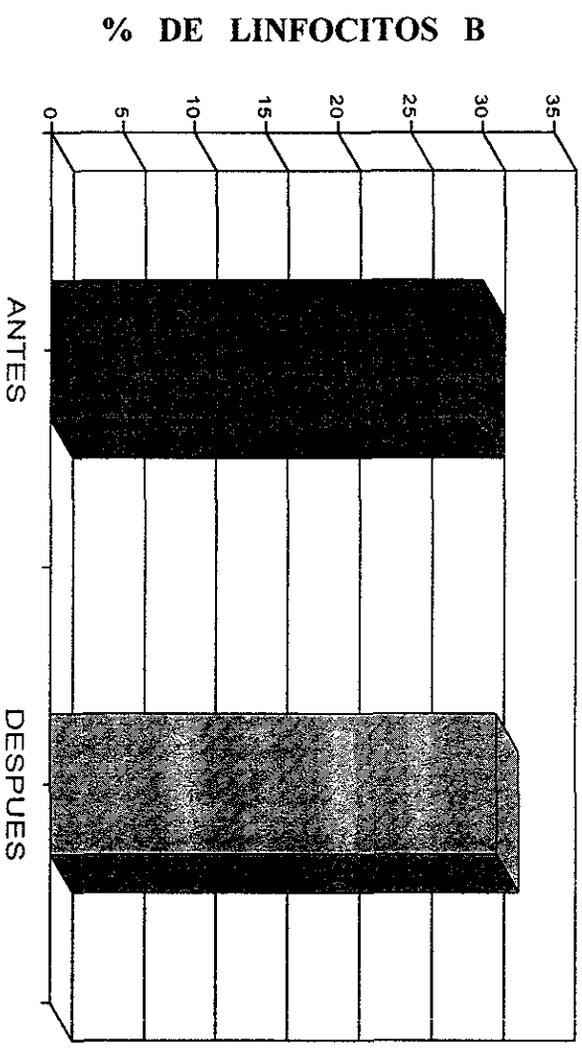
CUANTIFICACION DE LINFOCITOS T EN ANESTESIOLOGOS



$P = N.S.$

FIGURA 2

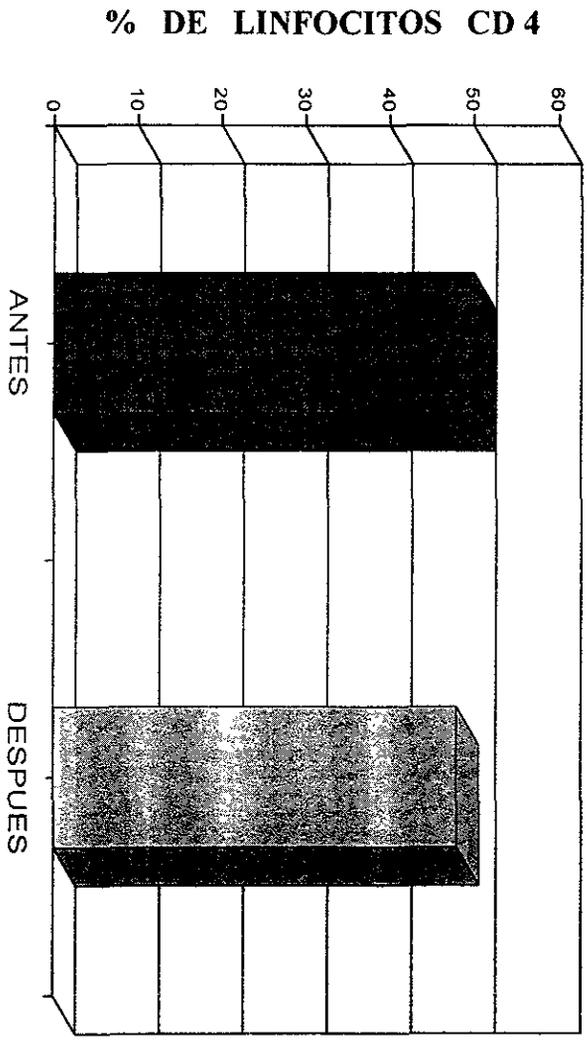
CUANTIFICACION DE LINFOCITOS B EN ANESTESIOLOGOS



$P = N . S .$

FIGURA 3

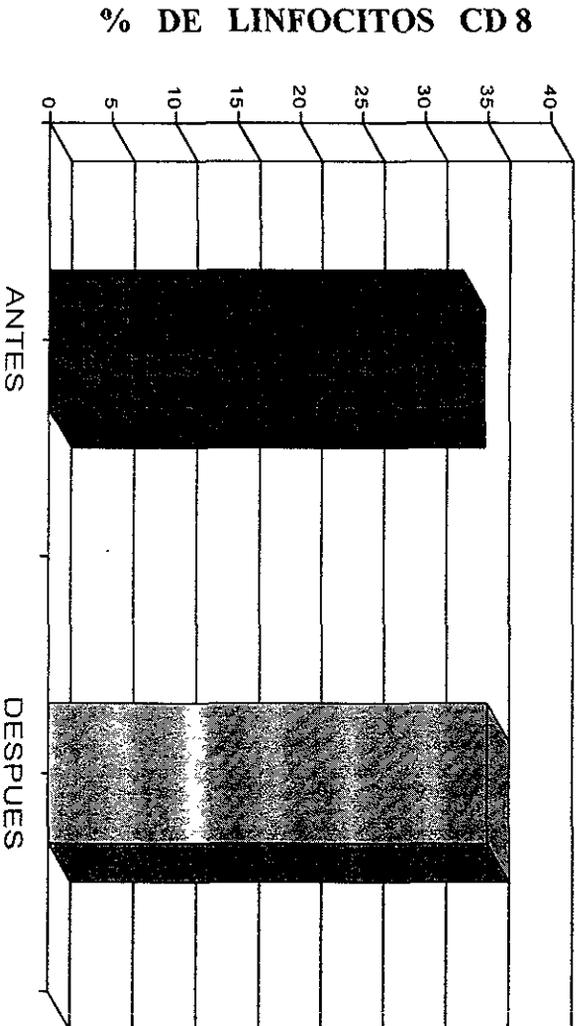
**CUANTIFICACION DE LINFOCITOS CD 4
EN ANESTESIOLOGOS**



P = N . S.

FIGURA 4

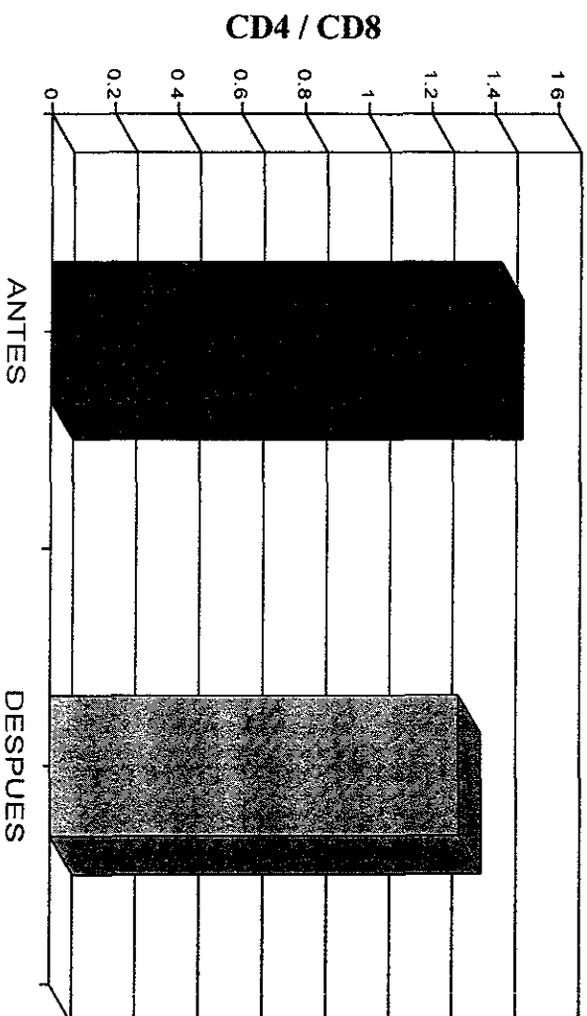
CUANTIFICACION DE LINFOCITOS CD 8 EN ANESTESIOLOGOS



P = N . S.

FIGURA 5

**RELACION CD 4/CD 8
EN ANESTESIOLOGOS**



P = N . S. ANESTESIOLOGOS

FIGURA 6

CUANTIFICACION DE L.I.F. EN ANESTESIOLOGOS

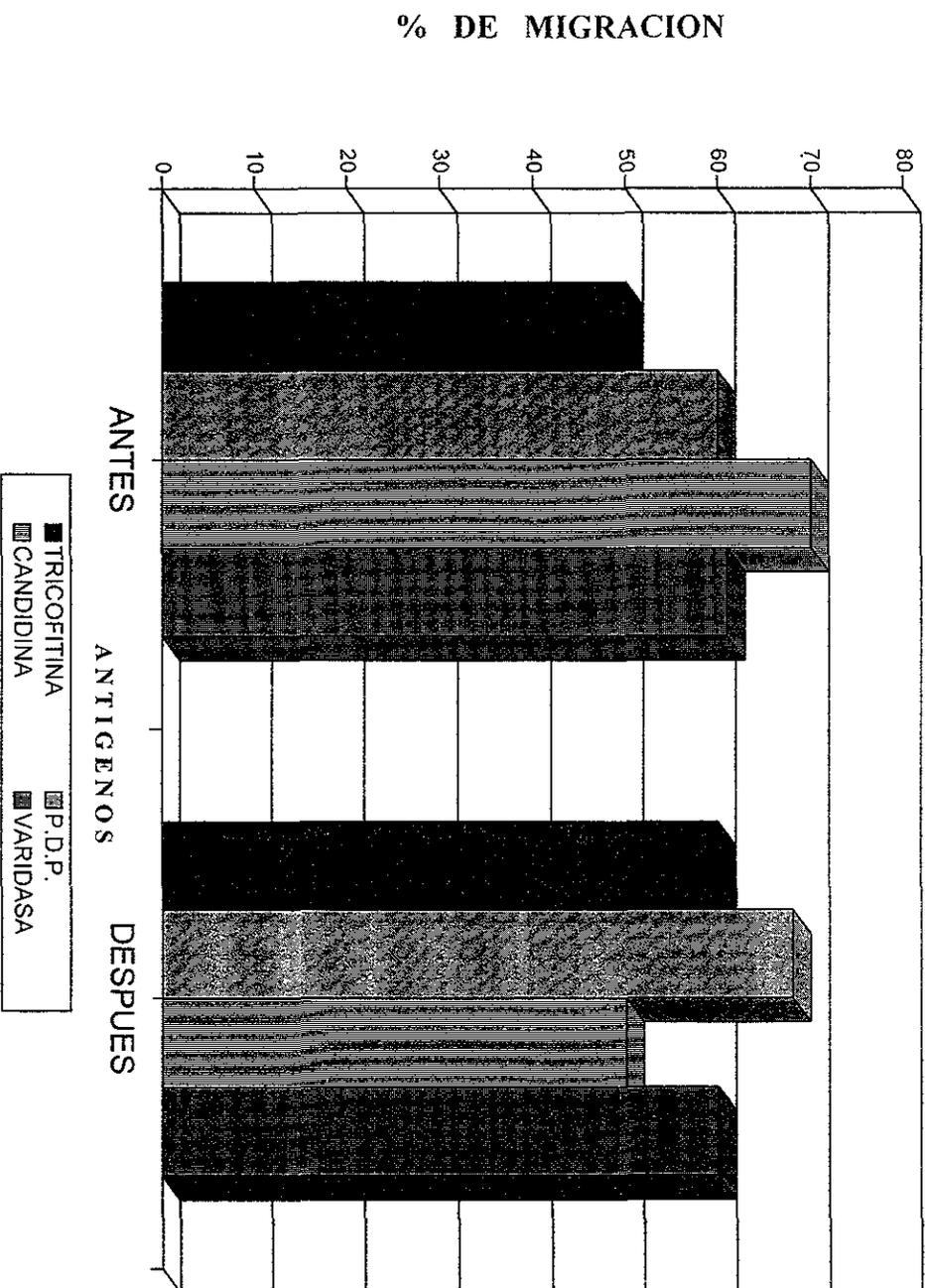


FIGURA 7

N° DE INTERCAMBIOS DE CROMATOIDES HERMANAS EN ANESTESIOLOGOS

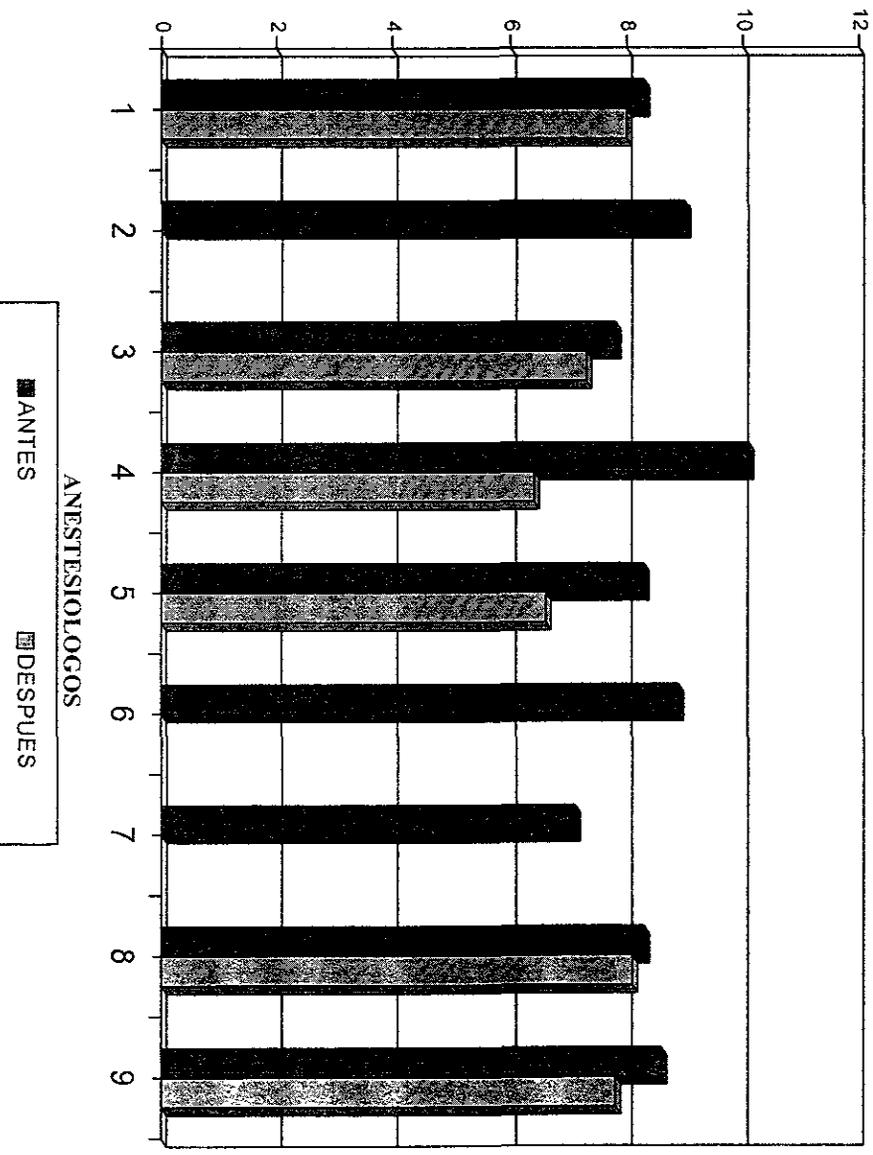


FIGURA 8

N° DE INTERCAMBIOS DE CROMATOIDES HERMANAS EN ANESTESIOLOGOS

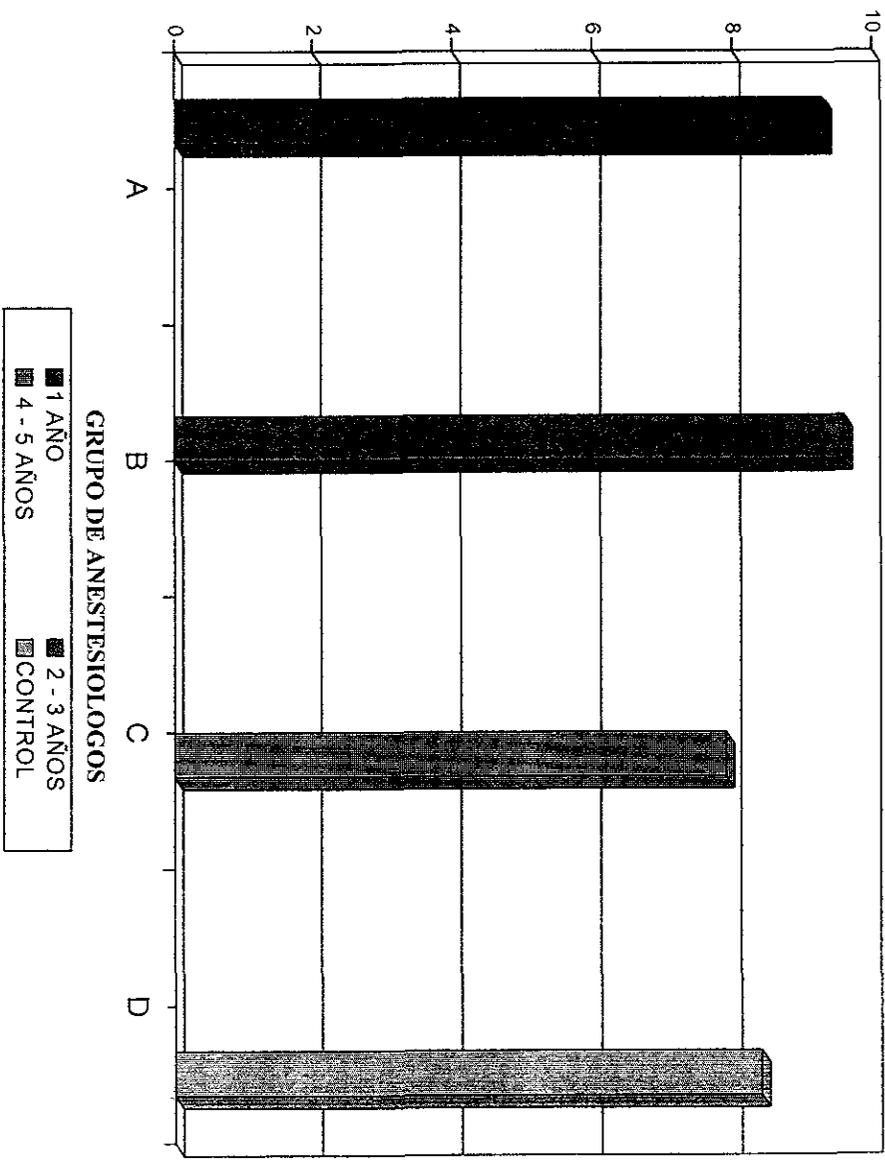
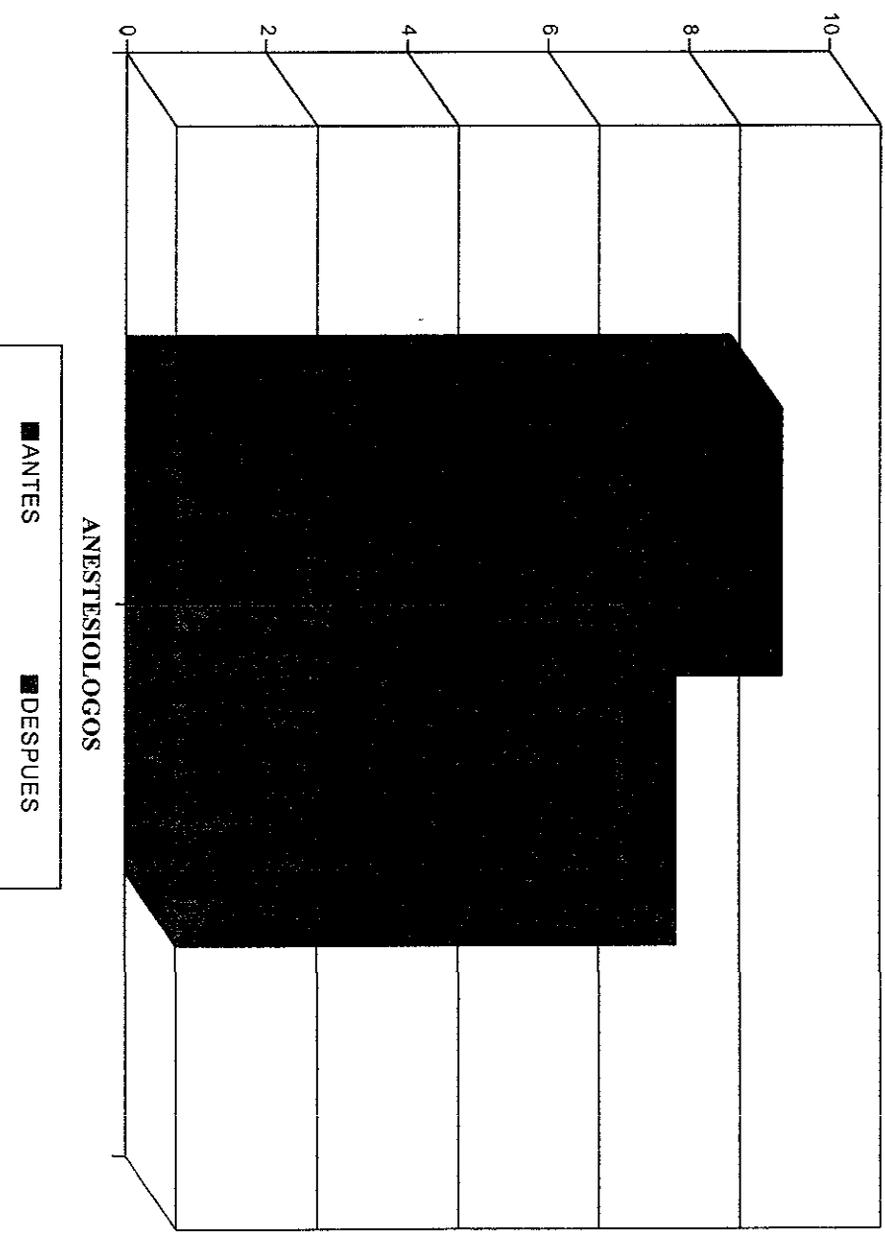


FIGURA 9

Nº DE INTERCAMBIOS DE CROMATOIDES HERMANAS EN ANESTESIOLOGOS

Nº DE INTERCAMBIO



ANEXO II

HOSPITAL GENERAL DE MEXICO

CARTA DE CONSENTIMIENTO

A QUIEN CORRESPONDA:

Por medio de la presente autorizo al personal médico de quirófanos centrales del Hospital General de México S. S. A., para que se me tomen las muestras de sangre venosa periférica necesarias para la determinación de alteraciones inmunológicas del estudio de investigación clínica:

“ALTERACIONES INMUNOLOGICAS EN ANESTESIOLOGOS A LA EXPOSICIÓN CRONICA DE ANESTESICOS HALOGENADOS”

Declaro con anterioridad que se me ha explicado detalladamente en que consiste la toma de muestra de sangre, que beneficiará dicho estudio. Estableciendo que recibiré respuesta a cualquier pregunta y aclaración relacionada con la investigación , y estoy en completa libertad para retirar la presente autorización en el momento que lo desee y sin que ello se afecte las relaciones laborales por parte del servicio.

PACIENTE

INVESTIGADOR

TESTIGO

TESTIGO

**ESTA TESIS NO SALE
DE LA BIBLIOTECA**

BIBLIOGRAFIA

VI. BIBLIOGRAFIA

- 1. Thomas H. Corbett y Cols. Incidence of Cancer amog Michigan Nurse Anesthetists. Anesthesiology V. 38 N° 3 Mar. 1973 pp. 260-263.**
- 2. Bruce, David L., y Col. Causes of Death amog Anesthesiologists a 20-Year Survey. Anesthesiology, May-June, 1965 pp 565 – 569.**
- 3. Collins y Cols. Anestesiología. Tomo 1, 1983 pp. 678-694.**
- 4. Eger, EdmondI., y Cols. A test of the Carcinogenicity of Enflurane, Isoflurane, Halothane, Methoxyflurane, and N. Oxide in Mice. Anesth. Analg. 57: 1978 pp. 678-694.**
- 5. Adriana Silvia Adaya, Cols. Efectos Adversos de la Inhalación Subanestésica. Rev. Mex. Anest. No. 10; 1987 pp. 168-175.**
- 6. Duncan Ister G., Cols. Anesthesia and Inmunology. Anesthesiology; V. 45 No. 5 1976 pp. 522-538.**
- 7. Jeffrey M. Baden M. D. Y Cols. Carcinogen Biassay of Nitrous Oxide in Mice. Anesthesiology, Vol. 64; 1986 pp 747-750.**

8. Arthur C. Upton. Principles of Cancer Biology; Etiology and Prevention of Cancer. Chapter 2, 1985 pp. 33-58.
9. Bradley E. Smith., Teratogenic effects of Anesthetic Agents Nitrous Oxide. Anesthesia and Analgesia, V 44 No. 6. 1965 Nov-Dec., pp. 726-732.
10. David L. Bruce. Murine Fertility Unaffected by Traces of Halothane. Anesthesiology., Vol. 38 No. 5, May 1973 pp 473-478.
11. Robert S. Wharton. Fertility, Reproduction and Postnatal Survival in Mice Chronically Exposed to Halothane. Anesthesiology. Vol. 48, 1978 pp. 167-174.
12. A. Bawler. Lack of Mutagenic effects of Halothane in Mammals in Vivo. Anesthesiology Vol. 55 1981 pp. 143-147.
13. R. I. Mazze, M. Fuginaga. Reproductive and Teratogenic effects of Nitrous Oxide, Fentanyl and Their Combination in Sprague Dawley Rats, Br. J. Anesth., 1987, 29: 1291-1297.
14. Baden, J. M., Mutagenicity of Volatile Anesthetics Halothane. Anesthesiology Vol. 45. 1976 pp. 311-316.

15. Jean Sturrok. Efectos Citotóxicos de los anestésicos por Inhalación. *Anestesia General* Cecil Cray, Salvat., t 1, 2ª Ed. México. 1983 pp. 181-193.
16. Andrew J. Wyrobek. Ph. D. Sperm Studies in Anesthesiologist. *Anesthesiology* 1981 Vol. 55 pp 527-532.
17. Charles E. Whitcher. Chronic Exposure of Anesthetic Gases in the Operation room. *Anesthesiology*., Vol. 35 No. 4 Oct 1971 pp. 348-353.
18. Harry W: Linde. Occupational Exposure of Anesthetics to Halothane, Nitrous Oxide and Radiation. *Anesthesiology*. 1969 Apr. Pp. 363-368.
19. Rusk, C.J. Mitotic Anomalies Induced by Three inhalation Halogenated Anesthetics. *Environ. Res.*. 1976. Vol. 12 pp. 366-370.
20. Synergism Between Halothane and Nitrous Oxide in the Production of Nuclear Abnormalities in the Siving Fibroblast. *Anesthesiology* Vol. 44. No. 6 Jun. 1976 pp. 641-671.

21. Robert S. Wharton, M. D. Y Cols. Reproduction and fetal Development in Mice Chronically Exposed to Enflurane. *Anesthesiology* Vol. No. 54 1981 pp. 505-510.
22. Adriana Silva Adaya Godoy. Cuantificación de Halotano y Enflurano por cromatografía en fase gaseosa en los quirófanos de un Hospital Pediatrico. *Rev. Mex. Anest.*, 1987. 10 pp. 147-150.
23. John H. Lecky. Problemas que plantean los niveles de anestésicos. *Complicaciones en Anestesiología*, F. K. Orkin. Salvat, 1985 pp. 717-734.
24. Dr. Alberto Odor Guerini y Col. Riesgos Profesionales del Anestesiólogo y del Personal de Quirófano. Programa de Actualización Continua para Anestesiólogos. PAC Anestesia-1, Tómo A-1. Abbott Laboratories División Hospitales. 1ª edición 1997. Pp.65-69.
25. Cohen En y Col. Enfermedades Ocupacionales entre el Personal que trabaja en los Quirófanos. *Rev. Col. Anest.* Junio, 1995.
26. De Lille Fuentes R. Contaminación ambiental en salas de operaciones y su consecuencia para el anestesiólogo y personal que labora en ellas. *Rev. Mex. Anest.* 1985; 8: abril-junio.

27. Herrera Ponton J. Riesgo Profesional del Anestesiólogo y del personal que trabaja en el área quirúrgica. Rev. Anest. Mex.1989; 1-2,jul-sep.
- 28.Vega Ramos R. Castaños C. Moreno RH. Does Ries JR. Monografía sobre los riesgos profesionales del anestesiólogo. Rev. Arg. Anest. 1978; 36: 50.
- 29.Vega Ramos R. Castaños C. Moreno RH. Simposium-Foro: riesgos profesionales. Rev. Científica Anest 1979; 1:2.
- 30.Unceta- Barranchara Orue B y col. Determinación de las concentraciones anestésicas del halotano en quirófanos y salas de despertar. Rev. Esp. Anest 1989; 36: 171.