

SIMPOSIO

El ambiente como factor de deterioro de la salud*

I. INTRODUCCION

JESÚS KUMATE†

El ambiente ha sido siempre un factor importante dentro de los determinantes de la salud humana. Al aparecer los primeros homínidos del paleolítico inferior, con un *modus vivendi* de cazadores-recolectores, con instrumentación muy primitiva, sin dominio del fuego y agrupaciones muy reducidas, la influencia ambiental fue de primera magnitud. Los periodos glaciares, la acción predatoria de carnívoros mayores, la competencia de otros animales, las catástrofes naturales y los cambios de estaciones (lluvias, nieve, sequía) constituyeron eventos formidables en la vida de nuestros ancestros primitivos.

La manipulación del fuego, el mejor dominio en las herramientas, el uso de pieles, la mejoría en las técnicas de caza y el abrigo de cavernas, todo como resultado del crecimiento del cerebro (duplicado a mediados del paleolítico), contribuyeron a una menor dependencia de las variaciones ambientales. Sin embargo, hasta ese momento la especie humana era como otro animal, en equilibrio con la cadena alimentaria, muy limitado en su capacidad para alterar el ambiente; todavía no era una amenaza ni para los animales convivientes ni mucho menos para el *habitat*.

El crecimiento del encéfalo que llega a ser el triple del volumen original de *Australopithecus*, hace posi-

ble la invención de la agricultura y de la domesticación de los animales, con lo que al término del último periodo glacial, hace 12 000 años, se inicia el periodo neolítico, con una nueva manera de vivir: el hombre se transforma de cazador-recolector en agricultor-pastor. La introducción de fertilizantes animales y sobre todo, la irrigación controlada, con el incremento considerable en rendimiento (producción) obligan a poblamientos humanos que son el origen de las ciudades modernas.

Las tierras favorables para la agricultura con los arados originales estaban localizadas en zonas geográficas que corresponden a la cuenca mediterránea. La introducción del arado pesado en Europa, en el siglo VII, marca el inicio del predominio europeo en la productividad, que se continúa en los siglos XVII, XVIII y XIX, por las etapas subsecuentes de la revolución industrial que posteriormente se ha extendido a todo el orbe.

Las características que han conformado la vida contemporánea en casi todo el mundo son:

1. Agricultura de alto rendimiento a base de mecanización, fertilizantes y uso de insecticidas para el control de plagas.
2. Desarrollo industrial en la producción de artículos de consumo y satisfactores con demanda cada vez creciente, en cuya elaboración se consume energía fósil y se generan productos no reutilizables a plazo corto y de naturaleza tóxica.

* Presentado en la sesión ordinaria de la Academia Nacional de Medicina, celebrada el 15 de marzo de 1978.

† Académico titular. Hospital Infantil de México.

3. Tendencia irreversible al agrupamiento en ciudades grandes y;
4. en comunidades o países con organización, laboriosidad y tradición tecnológica, el aumento en la productividad genera mayor riqueza que se traduce en mayor consumo y en desperdicio importante en toda la cadena productiva.

El resultado inevitable de esa conducta ha sido: la contaminación del aire, de las aguas (corrientes, estables, litorales y aún de alta mar), la deforestación y la erosión de la capa de suelo que sustenta la vida en la tierra, la extinción de especies animales, la modificación drástica del suelo por la explotación agrícola de monocultivos y la exposición de todos los seres vivos ante agentes nuevos (de síntesis), con propiedades tóxicas, mutagénicas o carcinogénicas que plantean posibilidades novedosas en la patología.

En este simposio se presentan trabajos realizados o en curso de elaboración en México, que pueden ilustrar algunos campos representativos de la acción deletérea del ambiente sobre la salud. No constituyen esfuerzos oficiales de índole gubernamental, sino líneas de trabajo naturales de acuerdo con la vocación e inquietudes de investigación de los autores. Por razones de tiempo no se incluyen en esta ocasión aspectos tan pertinentes al tema como los relativos a los cambios ambientales operados por el empleo de antimicrobianos en los últimos 40 años; las infecciones adquiridas en los hospitales y el nuevo sesgo de las infecciones resultado del progreso en el saneamiento ambiental (poliomielitis y mononucleosis infecciosa como ejemplos prototípicos), amén de todo lo concerniente con los trastornos psicológicos originados en el modo de vivir contemporáneo. En ocasión ulterior, habrá oportunidad de informar sobre estos temas.

El que exista preocupación por las consecuencias del crecimiento y sus posibles límites, está íntimamente relacionado con la demografía, y de manera muy importante, con la concepción de la vida que tienen los individuos y los pueblos (o sus gobiernos) . . . "La ecología humana está básicamente condicionada por las creencias acerca de nuestra naturaleza y nuestro destino, esto es, por la religión. . ." (White). Independientemente de esas creencias que condicionan las actitudes, la ecología ofrece la oportunidad de contribuir con un esfuerzo de integración que trasciende el reduccionismo analítico dominante hasta hace poco en la ciencia médica (biología molecular) y permite ubicar a los seres vivos o pasar de los átomos, moléculas, genes, órganos y sistemas a los seres vivos y éstos dentro de agrupamientos más complicados como las poblaciones, los sistemas culturales y finalmente los ecosistemas .

"... El futuro del hombre no está en el espacio, ni en los cohetes interplanetarios, ni en las selvas o en los mares o los desiertos. El futuro humano se decidirá en las ciudades. Si la meta de lograr ciudades sanas y humanas no puede garantizarse, nuestra civilización

tecnológica se desintegrará. Este proceso ya ha comenzado . . ."

II. ANEMIA APLÁSTICA. FACTORES ETIOLOGICOS

SAMUEL DORANTES*

Dentro del rubro anemia aplástica se distinguen cuatro grupos cuya etiología se ha podido precisar:

1o. Anemia aplástica hereditaria con anomalías congénitas (tipo Fanconi) o sin anomalías congénitas (tipo Estren y Dameshek). La frecuencia relativa de la forma hereditaria y de la forma adquirida que se encontró en varias series de niños con esta enfermedad, se presenta en el cuadro 1.¹⁻⁶ Los datos mexicanos corresponden a un estudio prospectivo realizado por de los Cobos Villaseñor y Dorantes.

2o. Anemias aplásticas determinadas por un mecanismo inmunológico demostrado en una mujer de 26 años por Ascensão, Pahwa y Kagan,⁷ por Hoffman, Zanjani y Lutton⁸ en cinco de siete pacientes estudiados y por Gómez Estrada, Flores, López Avilés y Dorantes en uno de cinco niños; estos casos fueron estudiados en esencia mediante variantes de cultivo de médula ósea y de linfocitos de la sangre valorados por el estudio de la incorporación de timidina tritiada.

3o. Anemias aplásticas inducidas por el tratamiento de neoplasias malignas mediante radiaciones y agentes quimioterápicos, quizás las más frecuentes, pero que habitualmente no se incluyen en las series publicadas sobre el tema.

4o. Anemias aplásticas asociadas a procesos infecciosos. En el estudio de 137 pacientes con anemia aplástica, se encontró que en dos la enfermedad se inició con un proceso infeccioso generalizado, seguido por la aparición de pancitopenia. En uno se aisló *Salmonella typhi* y en el otro *Brucella mellitensis*.⁹ Se han informado casos relacionados con hepatitis infecciosa, sarampión y varicela.^{3, 10-13}

Los restantes pacientes con anemia aplástica adquirida, se dividen a su vez en dos grupos: a) los pacientes en que su enfermedad se relaciona aparentemente con su exposición a un agente químico y b) aquéllos en que no hay causa aparente, por lo que se denominan idiopáticos. Los del grupo a) constituyen el motivo de esta comunicación.

Es conveniente hacer notar que la relación entre la exposición a un agente químico y el desarrollo de anemia aplástica se ha documentado satisfactoriamente en algunos casos. Por ejemplo, durante la segunda guerra mundial, los soldados americanos que recibían atebriña en forma periódica, tuvieron una incidencia 25 veces mayor de anemia aplástica que los soldados que no la recibieron.¹⁴ Sánchez Medel, Castanedo y

* Académico numerario. Hospital Infantil de México.

Cuadro 1. Relación entre formas hereditarias y adquiridas de anemia aplásica.

Autores	Anemia aplásica hereditaria	Anemia aplásica adquirida	Relación
Despósito ¹	4	9	1:2.25
Shahidi ²	7	17	1:2.42
O'Gorman Hughes ³	29	104	1:3.60
Heyn ⁴	8	33	1:4.12
Li ⁵	13	57	1:4.38
De los Cobos	6	30	1:5.00
Killander ⁶	2	17	1:8.50

y García Rojas informaron la muerte de un niño de 13 años, parcialmente recuperado de anemia aplásica, cuando fue reexpuesto en forma accidental a DDT; el cuadro se desarrolló en 30 horas con vasodilatación periférica marcada, bulas pruriginosas y sangrado pulmonar.¹³ Yunis encontró que bastaban 25 a 30 microgramos de cloranfenicol por mililitro, para inhibir la síntesis de DNA *in vitro*, en médulas óseas de personas recuperadas de anemia aplásica colocadas en relación temporal con este antibiótico, mientras que se requerían más de 100 microgramos para causar la inhibición en médulas de personas normales.

También debe hacerse notar que la relación causal aparente con agentes químicos cambia con los años y con las áreas geográficas consideradas.¹⁶ Esto último queda ilustrado por las diferencias marcadas que se observan entre México y otros países, en lo que toca a la frecuencia relativa del cloranfenicol y de los insecticidas como probables agentes causales de anemia aplásica: de 400 casos de esta entidad causados probablemente por medicamentos, informados al comité correspondiente de la Asociación Médica Americana, 45 por ciento fue atribuido al cloranfenicol.¹⁷ En un estudio cooperativo realizado en Suiza, 46 de 101 casos fueron atribuidos a este antibiótico;¹⁸ de 97 casos de anemia aplásica en niños estudiados en los Estados Unidos de Norteamérica y Suecia, 43 por ciento fue atribuido a cloranfenicol y 6.5 por ciento a insecticidas (D.D.T. y lindano).^{1, 2, 4, 9} En cambio, en el Instituto Nacional de la Nutrición, Sánchez Medal y sus colaboradores consideraron al cloranfenicol como agente causal en 7.2 por ciento de 83 casos y a los insecticidas, en 24 por ciento.¹⁵ En otro estudio realizado en el país, las cifras fueron respectivamente de 11 y 42 por ciento.¹⁹

En el Centro Médico La Raza se encontró que el cloranfenicol estaba implicado en 2.8 por ciento y los insecticidas en 41 por ciento.²⁰ En una serie de 143 niños estudiados en el Hospital Infantil de México, la administración de cloranfenicol se mencionó en 9.6 por ciento y el contacto con insecticidas, en 35.5

Cuadro 2. Comparación de la frecuencia de hogares no integrados y de un ingreso mensual inferior a \$300.00 en familias de niños con anemia aplásica y en 4 756 familias de niños internados por otras enfermedades.

	Familias de anemia aplásica	Familias de otras enfermedades	χ^2 *	Valor de "p"
Hogar integrado	18	25	10.4	<0.005
Hogar no integrado	12	5		
Ingreso mensual igual o superior a \$ 300.00	21	24	0.84	.50 > p > 0.30
Ingreso mensual inferior a \$ 300.00	6	3		

* El valor de χ^2 para comparar la frecuencia de ingresos muy bajos, se calculó con la corrección de Yates para muestras pequeñas.

por ciento.²¹ También se ha referido exposición de los niños con anemia aplásica a pintura de aceite, adelgazador de pintura y cementos con tolueno, que en la serie mencionada comprendió a 14 por ciento de los niños.²¹

Siempre ha llamado la atención la evidente (y afortunada) desproporción entre el elevado número de personas expuestas a los medicamentos, insecticidas o solventes inculcados en la génesis de la anemia aplásica y el número de personas que presentan esta enfermedad, por lo que se ha postulado que "es la respuesta peculiar de un porcentaje pequeño de seres humanos a diferentes agresiones, debida a características somáticas, que deben ser estudiadas".²¹ Se ha investigado la presencia de anticuerpos a las sustancias implicadas y el funcionamiento de los mecanismos responsables del manejo de estas sustancias sin haber obtenido resultados concluyentes.

Se decidió pues realizar un estudio de las características generales de los niños en que se estableció este diagnóstico en el Hospital Infantil de México entre el 10 de agosto de 1968 y el 31 de mayo de 1971.

El Departamento de Trabajo Social estudió 30 familias de niños con anemia aplásica y comparó los resultados con los de 4 756 estudios en familias de

Cuadro 3. Comparación del sexo y la edad en 31 niños con anemia aplásica adquirida y en 20 415 niños que ingresaron al Hospital Infantil de México en el mismo periodo por otras causas.

Sexo	Niños con anemia aplásica	Niños con otras enfermedades	χ^2	Valor de "p"
Masculino	20	18	Diferencias no significativas.	
Femenino	11	13		
Edad Escolar	23	12	16.44	<0.001
No escolar	8	19		

niños con otros diagnósticos. Puede verse en el cuadro 2 que se encontraron doce hogares no integrados en el grupo de anemia aplásica y cinco en el grupo de otros diagnósticos; la diferencia es significativa. Se encontraron ingresos económicos muy bajos en seis de 27 familias en el grupo de anemia aplásica y en tres del grupo con otros diagnósticos; esta diferencia no es significativa.

Puede observarse en el cuadro 3 que en el grupo de niños con anemia aplásica ingresó la misma proporción de uno y otro sexo que en el grupo de pacientes admitidos al hospital con otros diagnósticos. En cambio, en el grupo de anemia aplásica predominó la edad escolar.

Se valoró la condición nutricional de los niños con anemia aplásica. Se estudió el aporte de proteínas de alto valor biológico en relación al mínimo recomendado y se encontró que la ingestión de carne era deficiente en 70 por ciento, la de huevo en 58 por ciento y la de leche en 50 por ciento. Además, las dietas eran pobres en verduras en 41 por ciento y en frutas en 20 por ciento. El cuadro 4 muestra que la mayoría de las tallas y los pesos de los escolares con anemia aplásica, eran inferiores a las medianas establecidas por Ramos Galván,²² y que los niños que ingresaron al hospital con otro diagnóstico, durante el mismo periodo, mostraban un fenómeno semejante aunque menos marcado. La diferencia entre los dos grupos no es significativa.

Se estudió la edad ósea mediante una placa del puño izquierdo. En el cuadro 5 se aprecia que la edad ósea era significativamente diferente a la edad cronológica, pero que el retraso en la edad por talla y en la maduración ósea era armónico.

A 26 niños se les aplicaron las pruebas de Bender, Goodenough y Wechsler,^{23, 24, 25} se encontró un co-

Cuadro 4. Comparación de las distribuciones en percentiles de las tallas y de los pesos de niños escolares con anemia aplásica y de niños con otros diagnósticos.

Percentilas	Escolares con anemia aplásica	Escolares con otros diagnósticos
Talla		
< Percentil 3	9	6
Percentiles 3 a 50	10	10
Percentiles 51 a 97	4	6
> Percentil 97	0	1
$\chi^2 = 1.40 \text{ p} > 0.05$		
Peso		
< Percentil 3	11	9
Percentiles 3 a 50	9	10
Percentiles 51 a 97	3	3
> Percentil 97	0	1
$\chi^2 = 0.36 \text{ p} > 0.05$		

ciente intelectual inferior a 70 en once niños; de 70 o más pero inferior a 80 en ocho y cocientes normales en siete niños. Resultaron anormales, además, la prueba de Bender en nueve niños y el electroencefalograma en 14 niños.

Si bien la circunstancia de que el estudio social del grupo de anemia aplásica y del grupo control no haya sido practicado por una misma persona, de que lo mismo sucedió con la medición de talla y peso y de que la ingestión de proteínas de alto valor biológico, la edad ósea y la psicometría no hayan sido valoradas en grupos testigos de la misma Institución, siembra cierta incertidumbre, los resultados señalan que los niños con anemia aplásica estudiados en el Hospital Infantil de México, tienen características que se observan en niños que han recibido alimentación insuficiente por largos periodos de tiempo.^{23, 24, 25} Precisar si la condición nutricional explica o no la respuesta peculiar a contaminantes del ambiente es tan importante, que dio lugar al diseño de nuevos planes de estudios.

Con el consejo de los grupos respectivos de la Academia Nacional de Medicina y de la Academia Mexicana de Pediatría se elaboró un plan de trabajo que tiene como objetivos precisar el número de personas que enferman de anemia aplásica por año en nuestro país y definir la situación económica de los afectados. Como se requiere del estudio de sangre y de la médula ósea para satisfacer el criterio diagnóstico, se planteó el problema a la Asociación Mexicana de Patología Clínica, la que solicitó a cada uno de sus miembros un número pequeño, cuidadosamente seleccionado de datos, que incluyen edad, sexo, nivel escolar e ingreso económico de cada enfermo. Esta

Cuadro 5. Comparación de la edad cronológica, de la edad correspondiente a la maduración ósea y de la edad correspondiente a la talla, en 25 niños con anemia aplástica, mediante la prueba de "t" para valores dependientes.*

Edades comparadas	n	$\bar{x}$	Valor de "t"	Valor de "p"
Cronológica y ósea	25	12	3.39	<0.01
Cronológica y por talla	25	18.6	9.5	<0.01
Ósea y por talla	25	2.96	0.74	>0.05

* Cuadro construido por el doctor Leopoldo Vega Franco.

encuesta se concluyó el 30 de junio de 1978.

Se trató de desarrollar un modelo experimental en animales para valorar la influencia de la desnutrición sobre la sensibilidad al benceno como agente causante de anemia aplástica. Basados en el trabajo de Moeschlin y Spek,²⁸ se investigó la aplicación de benceno por vía subcutánea en un total de 37 ratas en crecimiento, con diferentes dosis y esquemas de aplicación. Sólo se logró producir aplasia de la médula ósea en dos ratas que recibieron 0.300 ml. de benceno por kg. de peso, tres veces durante una semana; al aplicarse la cuarta dosis, en la semana siguiente, se observó cianosis, dificultad respiratoria, convulsiones y muerte unas horas después. En otras diez ratas se estudió el efecto producido por la inhalación diaria de 0.150 ml. o de 0.300 ml. por kg. de peso durante 10 a 27 semanas; con este método no se pudo producir aplasia de la médula ósea.²⁷

REFERENCIAS

- Despósito, F.; Akatsuka, J. y Thatcher, L. G.: *Bone marrow failure in pediatric patients*. J. Pediat. 64: 683, 1964.
- Shahidi, N. T. y Diamond, L. K.: *Testosterone-induced remission in aplastic anemia of both acquired and congenital type*. New Engl. J. Med. 264: 953, 1961.
- O'Gorman Hughes, D. W.: *The varied pattern of aplastic anemia in childhood*. Austr. Paediat. J. 2: 228, 1966.
- Heyn, R. M.; Ertel, I. J. y Tubergen, D. G.: *Course of acquired aplastic anemia in children treated with supportive care*. J.A.M.A. 208: 1372, 1969.
- Li, F. P.; Alter, B. P. y Nathan, D. G.: *The mortality of acquired aplastic anemia in children*. Blood 40: 153, 1972.
- Killander, A.; Lundmark, K. M. y Sjölin, S.: *Idiopathic aplastic anaemia in children*. Acta Paediat. Scand. 58: 10, 1969.
- Ascensão, P.; Pahwa, R. y Kagan, W.: *Aplastic anaemia: evidence for an immunological mechanism*. Lancet 1: 669, 1976.
- Hoffman, R.; Zanjani, E. D. y Lutton, J. D.: *Suppression of erythroid colony formation by lymphocytes from patients with aplastic anemia*. Blood 48: 1003, 1976.
- Dorantes, S.: *Cuadros hematológicos severos en bruce-*

- lost. Bol. Méd. Hosp. infant. (Méx.) 24: 235, 1967.
- Schwartz, E.; Baehner, R. L. y Diamond, L. K.: *Aplastic anemia following hepatitis*. Pediatrics 37: 681, 1966.
- Rubin, E.; Gottlieb, C. y Vogel, P.: *Syndrome of hepatitis and aplastic anemia*. Amer. J. Med. 45: 88, 1968.
- Benestad, H. B.: *Aplastic anemia: considerations on the pathogenesis*. Acta Med. Scand. 196: 255, 1974.
- Ragab, A. H.; Galkerson, E. y Crist, W. M.: *Granulopoiesis in childhood aplastic anemia*. J. Pediat. 88: 790, 1976.
- Custer, R. P.: *Aplastic anemia in soldiers treated with Atabrine*. Amer. J. Med. Sci. 212: 211, 1946.
- Sánchez-Medal, L.; Castaneda, J. P. y García Rojas, F.: *Insecticides and aplastic anemia*. New Engl. J. Med. 269: 1365, 1963.
- Sánchez-Medal, L. y Dorantes, S.: *Aplastic anemia*. Paediatrician 3: 74, 1974.
- Registry on blood dyscrasias: *Report to Council*. J.A.M.A. 179: 888, 1962.
- Keiser, G.; Bolli, P.; Walder, H. R. y Ferrari, V.: *Bone marrow damage and immunosuppression by thiamphenicol. Comparison with chloramphenicol*. Res. 14 th Congr. Int. Soc. Hemat. Sao Paulo, 1972, p. 2.
- Labardini, J.; Sánchez-Medal, L.; Duarte, L.; Gómez-Leal, A. y Esquivel, F.: *Androgens in aplastic anemia. Review of results in 103 consecutive cases*. (Cit. en 16).
- Reynoso, E.; Martínez, R. y Argáez, M.: *Hipoplasia de la médula ósea. Revisión de 85 casos*. Rev. Méd. I.M.S.S. (Méx.) 7: 190, 1968.
- Dorantes, S.: *Efectos colaterales del uso de antibióticos. Alteraciones hematológicas*. GAC. MÉD. MÉX. 111: 377, 1976.
- Ramos-Galván, R.: *Somatometría pediátrica*. Arch. Invest. Méd. (Méx.) 6: Supl. 1, 1975.
- Chavarría, C.: *Desnutrición y endocrinología*. En: *Desnutrición en el niño*. Ramos-Galván, R.; Mariscal, C.; Viniegra, A. y Pérez-Ortiz, B. (Eds.) México, 1969, p. 109.
- Ramos-Galván, R.; Mariscal, C.; Viniegra, A. y Pérez-Ortiz, B. (Eds.): *Desnutrición en el niño*. México, 1969, p. 165.
- Cravioto, J. y De Licardie, E. R.: *Mental performance in school age children*. Amer. J. Dis. Child. 120: 404, 1970.
- Moeschlin, S. y Spek, B.: *Experimental studies on the mechanism of action of benzene on the bone marrow*. Acta Haemat. 38: 104, 1967.
- López-Aviles M. C.: *Alteraciones hematológicas experimentales en ratas por la acción del benceno*. Tesis. Facultad de Ciencias, U.N.A.M., 1978.

III. CONTAMINACION ATMOSFERICA Y ESPIROMETRIA EN NIÑOS SANOS DEL DISTRITO FEDERAL

JOSÉ PÉREZ-NERIA*
GERARDO GARZA-VILLARREAL*
ANGEL GARDIDA-CHAVARRÍA*

Diversos investigadores en Japón, Alemania y Estados Unidos de Norteamérica han realizado mediciones de algunos parámetros de función ventilatoria: flujo es-

* Hospital de Pediatría. Centro Médico Nacional. Instituto Mexicano del Seguro Social.

Cuadro 6. Somatometría

	Atzacapotzalco		Tizapán		"p"
	x	D.E.	x	D.E.	
Edad (años)	11.6	1.4	11.6	1.4	N.S.
Talla (cm.)	141.5	9.2	141.7	10	N.S.
Peso (Kg.)	36.1	9.1	35.0	8.2	N.S.
Perímetro brazo (cm.)	21.3	2.5	20.9	2.2	N.S.
Perímetro pierna (cm.)	28.7	2.9	28.4	2.7	N.S.

N.S.: No significativa.

piratorio máximo, flujo espiratorio máximo medio, capacidad vital y resistencia de las vías aéreas en niños que residían en poblaciones con diferente grado de contaminación atmosférica y han encontrado alteraciones en aquellos niños que residían en las poblaciones con mayor grado de contaminación.¹⁻⁴ Lebowitz encontró disminución de la capacidad vital y del volumen espiratorio forzado en un grupo de niños después de que realizaban ejercicio físico en un ambiente contaminado.⁵

La Subsecretaría de Mejoramiento del Ambiente ha estudiado la contaminación atmosférica en el Distrito Federal, colocando estaciones analizadoras de polvo, CO, NO₂, y SO₂ en diversos puntos estratégicos del valle de México. Las zonas de mayor grado de contaminación se encuentran en el norte, centro y oriente, por ejemplo: Atzacapotzalco, Aeropuerto, Vallejo y el centro de la Ciudad. Los vientos predominantes durante los meses de mayo y junio se dirigen de norte a sur y se desvían por la sierra del Ajusco hacia el sureste. Es probable que por esta razón las zonas menos contaminadas se hayan localizado en el suroeste del Distrito Federal.⁶

Material y métodos

Con 344 niños del 4o. al 6o. grado de dos escuelas oficiales, localizadas en Atzacapotzalco (noroeste de la ciudad de México) y en Tizapán (suroeste),* se formaron dos grupos, de 161 y 183 respectivamente, semejantes en su nivel socioeconómico, cultural, desarrollo somatométrico y estado nutricional.

A cada niño se le proporcionó un cuestionario, que llenó en su domicilio, para indicar nombre, sexo, edad, tiempo de residir en la zona, características de la vivienda, actividades deportivas, antecedentes de padecimientos respiratorios, edad, escolaridad y ocupación de los padres e ingresos totales de la familia.

* Escuela "Teputchcalli", Otoño No. 46, Atzacapotzalco, D.F., y Escuela "Juan M. Álvarez", Av. San Jerónimo, Tizapán, D.F.

Cuadro 7. Características socioeconómicas y tiempo de residencia en la zona

	Atzacapotzalco		Tizapán		"p"
	x	D.E.	x	D.E.	
Ingresos mensuales por familia (\$)	5 098	2 920	4 788	3 287	N.S.
Personas por habitación	3.9	2.2	3.3	1.6	0.05
Personas por vivienda	7.7	2.6	7.8	2.4	N.S.
Años de residencia	9.33	2.6	10.1	2.5	0.01

N.S.: No significativa.

En el examen físico de cada niño se registraron peso, estatura y perímetro de brazo y pierna; se investigaron especialmente hipertrofia de amígdalas, malformaciones torácicas y deformidades de la columna vertebral. Se exploraron detenidamente el aparato respiratorio y el cardiovascular. Los resultados de la exploración de amígdalas y las deformidades de la columna se calificaron de acuerdo con los criterios de los servicios de Otorrinolaringología y Ortopedia del Hospital de Pediatría.

Las espirometrías se realizaron en el mes de mayo en subgrupos de 20 niños, a quienes se explicó el procedimiento, inicialmente en forma colectiva y posteriormente en forma individual, antes de efectuar el estudio. Se midieron la capacidad vital, el flujo espiratorio forzado máximo y el flujo espiratorio forzado máximo medio. Se utilizó el aparato Stead Wells, de 10 litros de capacidad, campana de plástico e inscripción directa por medio de plumilla, tinta y papel, a una velocidad de 1,920 mm/mín. El estudio se realizó estando el niño de pie. Los trazos se calcularon empleando la técnica de Miller y col.⁷

Los resultados obtenidos fueron analizados estadísticamente por el departamento de Informática del Centro Médico Nacional utilizándose la prueba χ^2 para los datos no paramétricos y la "t" de Student para los resultados paramétricos. Se determinaron el promedio, la desviación estándar y la probabilidad.

Resultados

Los promedios de edad fueron exactamente iguales en los dos grupos. Fue muy semejante el período de residir en la zona, así como el número de cuartos por vivienda y el número de personas que habitaban en la casa. Asimismo fueron muy semejantes los ingresos económicos por familia.

En lo que respecta al estado de nutrición y desarrollo somatométrico, ambos grupos fueron muy se-

Cuadro 8. Resultado de la espirometría

	Atzacapotzalco		Tizapán		"p"
	x	D.E.	x	D.E.	
FVC (%)	105	11.6	118.6	13.5	0.001
FEF 0-25 (%)	90.1	22.2	106.5	21.8	0.001
FEF 25-75 (%)	102.6	25	121.1	22.1	0.001

FVC: Capacidad vital forzada.

FEF 0-25: Flujo espiratorio máximo.

FEF 25-75: Flujo espiratorio máximo medio.

mejantes, tanto en lo correspondiente a estatura, peso y perímetro de brazo y pierna (cuadros 6 y 7).

No se observó diferencia significativa en la escolaridad de los padres entre ambos grupos. En el grupo de Atzacapotzalco se encontró hipertrofia de amígdalas de grado II, en 32 niños y grado III en dos. En Tizapán se encontró hipertrofia de amígdalas de grado II en 38 niños y de grado III en uno. En ningún niño se encontró deformidad de tórax o columna. La exploración de aparato respiratorio y cardiovascular fue normal en todos.

En cuanto a los índices de la función ventilatoria calculados en la espirometría y referidos en el Cuadro 3, se observaron diferencias estadísticamente significativas favorables al grupo de niños de Tizapán, tanto en lo que respecta a la capacidad vital forzada como de flujo espiratorio forzado máximo y máximo medio (cuadro 8).

Discusión

Se logró el propósito inicial de constituir dos grupos similares en cuanto a edad, estado nutricional y nivel socioeconómico y cultural. Además, todos los niños habían residido en su zona durante un tiempo prolongado; prevaleció pues como única diferencia importante el diferente grado de contaminación atmosférica probable de los sitios de residencia.

Las tres determinaciones de la función ventilatoria resultaron estar dentro del margen de normalidad en ambos grupos, conforme a la tabla de normales elaborada en el Departamento de Neumología del Hospital de Pediatría.⁸ Sin embargo, los resultados espirométricos de los niños de Atzacapotzalco, al ser comparados con los de Tizapán, muestran valores más bajos, con una diferencia estadísticamente significativa ("p" menor que 0.001).

La diferencia observada entre los niños de Atzacapotzalco y Tizapán en cuanto a los tres índices de la función ventilatoria analizados, se debió probablemente a que los primeros residían en una zona de mayor contaminación atmosférica.

REFERENCIAS

1. Mostardi, R. A.: *Air pollution and cardiopulmonary functions*. Arch. Environ. Health 29: 325, 1974.

2. Shy, C. M.: *Air pollution effects on ventilatory function of U.S. school children*. Arch. Environm. Health 27: 124, 1973.
3. Shy, C. M.: *The Chattanooga school children study: effects of community exposure to nitrogen dioxide*. J. Air Poll. Control Assoc. 20: 539, 1970.
4. Kagawa, J.: *Photochemical air pollution: its effects on respiratory function of elementary school children*. Arch. Environm. Health 30: 117, 1975.
5. Lebowitz, M. D.: *The effect of air pollution and weather on lung function in exercising children and adolescents*. Amer. Rev. Resp. Dis. 109: 262, 1974.
6. Subsecretaría de Mejoramiento del Ambiente, S.S.A. Comunicación personal.
7. Miller, W. F.: *Relationships between fast vital capacity and various timed expiratory capacities*. J. Appl. Physiol. 14: 157, 1954.
8. Siller, H. y Pérez Neria, J.: *Espirometría cronometrada en niños normales de la ciudad de México*. Rev. Méx. Ped. 40: 169, 1971.

IV. INTERCAMBIO DE CROMATIDES HERMANAS COMO METODO PARA LA DETECCION DE MUTAGENOS Y CARCINOGENOS AMBIENTALES. ESTUDIO EN PERSONAL DE LABORATORIO EXPUESTO A MATERIALES RADIATIVOS*

OSVALDO MUTCHINICK§

RUBÉN LISKER‡§

LIZBETH RUZ§

La investigación del posible daño biológico inducido por diversos agentes ambientales, es desde hace tiempo una constante preocupación, debido a las posibles acciones teratogénicas, mutagénicas y carcinogénicas atribuibles a los cada vez más numerosos factores que contaminan nuestro medio ambiente.

Desde las investigaciones pioneras de Müller en 1927,¹ quién comunicó por primera vez que las mutaciones pueden ser inducidas por los rayos X, las radiaciones ionizantes han sido objeto de innumerables y exhaustivos estudios, en un principio por medio de la evaluación de la frecuencia de mutaciones en genes individuales y posteriormente, mediante el análisis de aberraciones cromosómicas estructurales inducibles por dichas radiaciones.

Si se considera el desarrollo tecnológico actual y en particular, el de la industria química, al ya reconocido efecto deletéreo de las radiaciones se debe agregar una larga lista de sustancias con efectos similares, a las cuales el ser humano está expuesto, ya sea porque son compuestos químicos útiles, o porque

* Trabajo financiado en parte con el subsidio GT-25/78 de CONACYT.

‡ Académico numerario.

§ Departamento de Genética. Instituto Nacional de Nutrición.

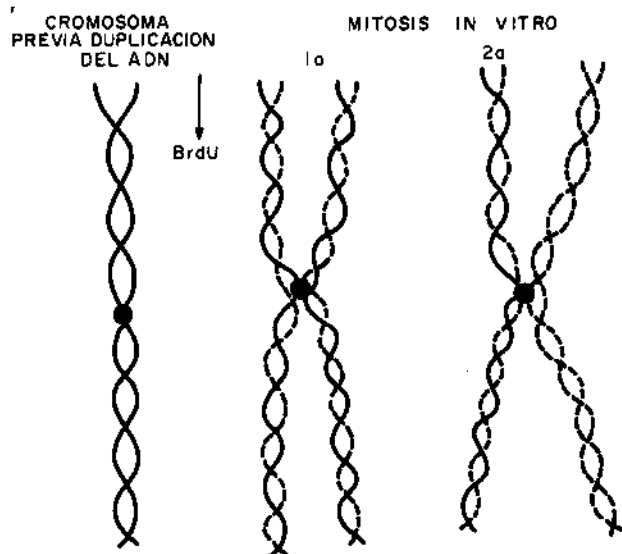


Fig. 1. Esquema en el que se muestra la composición química de los cromosomas, previa a la incorporación de la BrdU (— — —), y después de la misma en metafases correspondientes a la primera y segunda mitosis *in vitro*.

constituyen productos de desecho que contaminan el medio ambiente y cuya acción tóxica en cualquiera de sus formas de manifestación apenas comienza a ser conocida.

Las formas más importantes de evaluación desde el punto de vista genético hasta hace unos años, consistían, por un lado, en la determinación de la frecuencia de mutaciones génicas en diversos sistemas uni o pluricelulares y por otro, en la detección a nivel citogenético de aberraciones cromosómicas estructurales en animales de laboratorio y en el hombre.

Una serie de variables tales como si estudiar la primera o segunda metafase *in vitro* (48 ó 72 horas de cultivo), el momento del ciclo celular durante el cual actuó el mutágeno, la definición del tipo de aberración cromosómica observada, la dificultad de la correlación dosis-efecto para ciertas radiaciones como la luz ultravioleta y también para la mayoría de las sustancias químicas, resultaron ser inconvenientes críticos, a tal punto que la Organización Mundial de la Salud convocó en noviembre de 1971 a una reunión de expertos con el propósito de estandarizar las variables técnicas e interpretativas, y hacer de esta manera comparables los resultados de diferentes laboratorios.² Si a esto se agrega la gran cantidad de células que es necesario analizar para detectar primero y determinar después la frecuencia de las aberraciones cromosómicas, surge como evidente, además de las dificultades mencionadas en primer lugar, lo tedioso y el alto costo de este sistema. Esto ha llevado a la programación de sistemas automatizados de localización y análisis de las



Fig. 2. Metafase de uno de los integrantes del grupo control en la que pueden contarse siete intercambios de cromátidos hermanos. La flecha indica uno de ellos.

metafases, que son más costosos aún y no han dado los beneficios esperados.

Desde hace pocos años se ha comenzado a utilizar un nuevo método: el estudio del intercambio de cromátidos hermanos (ICH), el cual es mucho más fácil, económico y sensible para la detección del efecto mutagénico en células somáticas.³⁻⁵ El mismo consiste en la obtención de cromosomas con cromátidos químicamente diferentes, por medio de la incorporación *in vitro* de 5-bromodeoxiuridina (BrdU), un análogo de base que es incorporado dentro de la molécula de ácido desoxirribonucleico (ADN) en lugar de timina.

Si se cultivan células en presencia de BrdU, durante el primer ciclo celular, cada filamento de la doble espiral del ADN sintetiza su filamento complementario utilizando esta base. Durante la primera mitosis, las cromátides hermanas del cromosoma metafásico no se distinguen entre sí, ya que tienen la misma composición química. Sin embargo, si se deja proseguir el cultivo por un segundo ciclo celular y por tanto una segunda síntesis de ADN, una de las cromátides resultantes será "híbrida" al igual que las obtenidas después del primer ciclo celular, mientras que la otra tiene ambas cadenas del ADN con BrdU en lugar de timina (fig. 1). En este momento, segunda metafase *in vitro*, las cromátides hermanas del cromosoma metafásico son químicamente diferentes, lo que puede ponerse de manifiesto por la tinción diferencial que dan ambas cromátides cuando se colorean con el fluorocromo H-33258, un derivado de la bisbenzimidaz. Los cromosomas así coloreados, muestran una cromátide con intensa fluorescencia, que es la que sólo posee un filamento reemplazado con BrdU y otra en

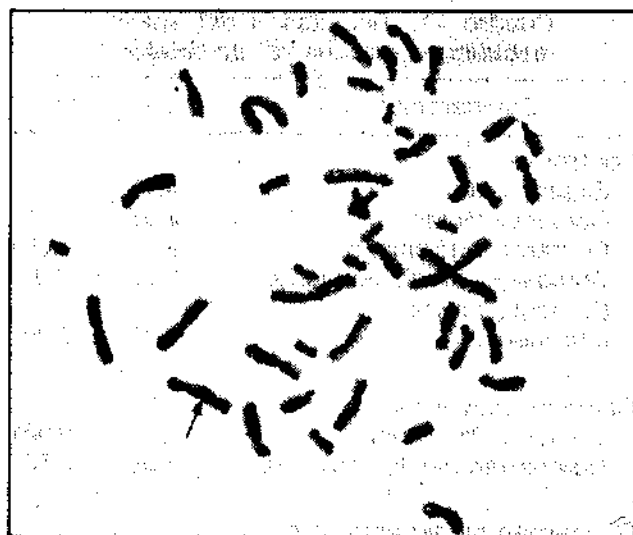


Fig. 3. Metafase correspondiente a uno de los individuos del grupo de contacto intermedio. En esta metafase pueden observarse 22 intercambios de cromátides hermanas. La flecha señala un ICH.

que la fluorescencia es más pálida, que corresponde a la que ha incorporado BrdU en ambos filamentos. Si a continuación la preparación cromosómica es expuesta a luz de longitud de onda cercana al de la ultravioleta (365 nm.), o simplemente a la luz solar, como se hace en nuestro laboratorio, y luego se colorea con Giemsa, se obtienen preparaciones permanentes de más fácil observación, que no necesitan de equipo costoso como un microscopio de fluorescencia y que no presentan el inconveniente de la temporalidad limitada de los colorantes fluorescentes (figs. 2 y 3).

Latt⁶ fue quien primero aplicó esta nueva técnica para identificar la presencia de intercambio de cromátides hermanas. Pudo así demostrar que los linfocitos humanos son muy sensibles al efecto de la mitomicina-C y que dicho compuesto produce un aumento significativo en la frecuencia de los ICH. Posteriormente, Solomon y Bobrow⁷ demostraron con esta técnica, lo que Kato⁸ comunicó en 1974 en relación a los agentes alquilantes usando la autorradiografía, señalando además, que el aumento en la frecuencia de los ICH se obtenía con cantidades muchísimo menores que las necesarias para producir aberraciones cromosómicas. Perry y Evans⁹ investigaron una serie de 14 compuestos de reconocida o sospechosa acción mutagénica, demostrando que doce de ellos producían aumentos significativos del número de ICH. De los dos con que la prueba fue negativa, uno de ellos, la ciclofosfamida, es de aquellas sustancias que necesitan ser previamente activadas en el organismo o *in vitro* con extractos microsomaes hepáticos para volverse mutagénica. Con respecto a la

Cuadro 9. Grupo experimental clasificado según tipo y grado de exposición

	Total	ICH	$\bar{x}$ /célula	D.E.	Tiempo de exposición en años
Contacto mayor (Tc-99m; I-131)					
	233		9.32	3.65	9
	245		9.80	3.59	20
	285		11.40	4.92	18
TT	763		10.17	4.14	—
Contacto intermedio (I-125; I-131)					
	306		12.24	4.32	17
	365		14.60	5.48	11
	371		14.84	5.81	9
TT	1042		13.89	5.29	—
Comparten medio ambiente					
	214		8.56	3.62	20
	224		8.96	3.32	6
	230		9.20	3.30	1
	234		9.36	3.29	20
	238		9.52	2.83	3
TT	1140		9.12	3.25	—

segunda, la hidrazida maleica, se ha demostrado que aunque mutagénica en vegetales, no lo es en células de mamíferos.

Ya ha sido observado el aumento en la frecuencia del intercambio de cromátides hermanas como resultado de la exposición tanto a agentes físicos, rayos X^{10, 11} y luz ultravioleta^{12, 13} como químicos.⁸⁻⁸ También han sido comunicados hallazgos semejantes en personal de laboratorio de análisis hormonales por Funes-Cravioto, en 1977.¹⁴

En el presente estudio se investigó la frecuencia de ICH en el personal que labora en el Departamento de Medicina Nuclear del Instituto Nacional de la Nutrición.

Material

Se seleccionó como grupo de estudio a todo el personal que labora en el Departamento de Medicina Nuclear del Instituto Nacional de la Nutrición. Los isótopos utilizados con fines de tratamiento y diagnóstico fueron ^{99m}molibdeno, ^{99m}tecnecio, ¹²⁵I y ¹³¹I.

El grupo estuvo integrado por once individuos, nueve de sexo femenino y dos del masculino, de 21 a 56 años de edad. De acuerdo con el grado de exposición, el conjunto fue subclasificado en tres categorías: CM, de contacto mayor; CI, de contacto intermedio y CMA, sin contacto directo, pero que comparten el medio ambiente. El número de personas que incluía a cada subgrupo, el tipo de compuesto con el cual estuvieron en contacto y los años de exposición a los mismos se presentan en el cuadro 9.

Cuadro 10. Frecuencia de ICH en individuos expuestos a radioactividad y controles

Individuos	Grupo experimental			Grupo Control		
	Total	$\bar{x}$ / célula	D.E.	Total	$\bar{x}$ / célula	D.E.
1	214	8.56	3.62	177	7.08	2.00
2	224	8.96	3.32	184	7.36	2.94
3	230	9.20	3.30	185	7.40	3.11
4	233	9.32	3.65	211	8.44	3.38
5	234	9.36	3.29	226	9.04	3.75
6	238	9.52	2.38	230	9.20	3.24
7	245	9.80	3.59	244	9.76	3.68
8	285	11.40	4.92	245	9.80	3.04
9	306	12.24	4.32	264	10.56	2.66
10	365	14.60	5.48	275	11.00	4.36
11	371	14.84	5.81	288	11.52	3.97
Total	2945	10.71	4.56	2529	9.20	3.58

El grupo testigo estuvo integrado por individuos de igual edad y sexo de los del grupo experimental. Se exigió además, que no hubiesen estado expuestas a radiaciones y que no hubiesen ingerido medicamentos ni padecido infecciones virales en los últimos tres meses.

Métodos

El análisis de la frecuencia de ICH se realizó en metafases obtenidas de cultivos de linfocitos de sangre periférica estimulados con fitohemaglutinina. Cada muestra fue codificada directamente en la jeringa con que se obtuvo la sangre y antes de realizarse la siembra. El código se mantuvo durante el transcurso de todo el estudio, rompiéndose después de terminado el análisis microscópico. La técnica de cultivo fue la habitualmente utilizada para estudios citogenéticos con la única modificación del agregado de BrdU al medio de cultivo, a razón de 5 μ g/ml. a las 24 hrs. de iniciado el cultivo y manteniéndose los mismos en completa oscuridad hasta el momento de la cosecha. La misma partida de medio de cultivo, fitohemaglutinina, suero fetal bovino y antibiótico se utilizó para todos los cultivos y siempre se sembró en el mismo día la sangre del individuo en estudio y la de su testigo. Una vez obtenidas las preparaciones, se colorearon en H-33258 durante 20 minutos, se expusieron a la luz solar durante 90 minutos y se tiñeron con Giemsa en buffer Sorensen pH 6.8 al 4 por ciento durante cinco minutos.

Se analizaron las frecuencias de ICH en 25 metafases de cada individuo, utilizándose los siguientes criterios de selección de las mismas: 1) que mostrasen la tinción diferencial con claridad y correspondiesen a segundas metafases *in vitro*; 2) que tuviesen 46 cro-

Cuadro 11. Resultados del análisis estadístico (prueba "t" de Student)

Comparaciones	"t" ∞	"p"<
Control vs:		
Experimental	4.18	0.001
Contacto mayor	2.07	0.05
Contacto intermedio	8.97	0.001
Comparten medio ambiente	0.21	N.S.
Contacto mayor + Intermedio	6.72	0.001
Contacto mayor vs:		
Contacto intermedio	4.78	0.001
Comparten medio ambiente	1.99	0.05
Comparten medio ambiente vs:		
Contacto intermedio	7.89	0.001
Contacto mayor + intermedio	2.54	0.02

mosomas, es decir que estuvieran completas; y 3) que la dispersión de los cromosomas fuese apropiada para la correcta identificación de los intercambios y de los pares o grupos cromosómicos, según el caso. Para la documentación del cómputo de los ICH observados, se diseñó un formulario que requirió para su llenado que cada metafase analizada fuera "cariotipada" durante la observación microscópica. Cada intercambio se asignó al cromosoma integrante de determinado par o grupo, especificándose si ocurría en los brazos cortos o largos y en qué parte de los mismos, en relación a la distancia del intercambio con el centrómero.

Para el análisis estadístico se utilizó la prueba "t" de Student para comparación de dos medias.

Resultados

Sólo serán presentados los correspondientes a la frecuencia total de ICH por individuo, las medias por célula y las comparaciones de las medias de los datos observados en el grupo experimental y el testigo.

Las frecuencias absolutas de ICH, las respectivas medias por célula y sus correspondientes desviaciones estándar se exponen en el cuadro 10. El resultado de las pruebas estadísticas realizadas para comparar los resultados aparecen en el cuadro 11, pudiendo observarse que son significativas las diferencias entre el grupo testigo y el grupo experimental ("p" < 0.001). La única comparación de las medias que no mostró ser estadísticamente diferente correspondió a la del grupo testigo con la del subgrupo de personas del CMA ("p" > 0.95).

Las curvas de distribución de los ICH/metafase correspondientes a los grupos experimental y control se presentan en la figura 4.

Discusión

Como puede observarse en la figura 4, las curvas de distribución de la frecuencia de células por número de ICH/célula muestran una distribución compatible con curvas normales, notándose en la misma que la correspondiente al grupo experimental, es levemente más alta y desplazada en forma notable hacia la derecha.

Los resultados obtenidos evidencian la presencia de diferencias significativas en las frecuencias de ICH, entre el grupo de personas que están expuestas a los isótopos radiactivos y el grupo testigo. Este hallazgo parece demostrar que los individuos que en forma crónica están expuestos a cantidades mínimas de metales de transición como el ^{90}Mo y el ^{99}Tc y a halógenos radiactivos del tipo del ^{125}I y ^{131}I manifiestan un daño biológico, interpretado como agresión al ADN y expresado por una mayor frecuencia en los ICH. Si bien los valores absolutos observados en cada grupo no impresionan como diferencias marcadas, debe tenerse en cuenta que las dosis a las cuales se encuentran expuestos son muy pequeñas y que los cuidados para evitar la contaminación son teóricamente extremos.

Las diferencias significativas halladas en las comparaciones entre las frecuencias de ICH/célula del grupo testigo y los grupos de CM y CI y de la suma de ambos (CM+CI) y la ausencia de dichas diferencias con el grupo CMA, el cual se comportó en relación a los subgrupos de CM y CI como un segundo grupo control, refuerzan las evidencias que sugieren que aquellos individuos que manipulan los isótopos radiactivos mencionados difieren por igual de testigos no expuestos como de sus propios compañeros de trabajo que comparten el medio ambiente, pero que no están en contacto directo con los radioisótopos.

Otro hecho que llama la atención es que el subgrupo CI presenta una frecuencia mayor que el grupo CM y que la media de ICH/célula observada en los individuos con CI difiere significativamente del resto de los grupos. Sin embargo, si se toma en consideración que este subgrupo únicamente está en contacto con ^{125}I y ^{131}I , que estas sustancias son halógenos y que existen evidencias del efecto mutagénico de otros compuestos halogenados, tanto en lo referente a la inducción de ICH como de anomalías mitóticas y aberraciones cromosómicas,¹⁶⁻¹⁷ resulta más que sugestivo que sea éste el grupo que presenta la mayor frecuencia de ICH. Otro hecho a tener presente es que de acuerdo a información recogida dentro del mismo Departamento de Medicina Nuclear, los integrantes de este subgrupo son los que menos cuidados toman para protegerse de los compuestos que manipulan.

Sólo una referencia en la literatura hemos encontrado, en la cual se estudiaron varios grupos de técnicos de laboratorio, que estuvieran en contacto con

NUMERO DE INTERCAMBIO DE CROMATIDES HERMANAS POR METAFASE

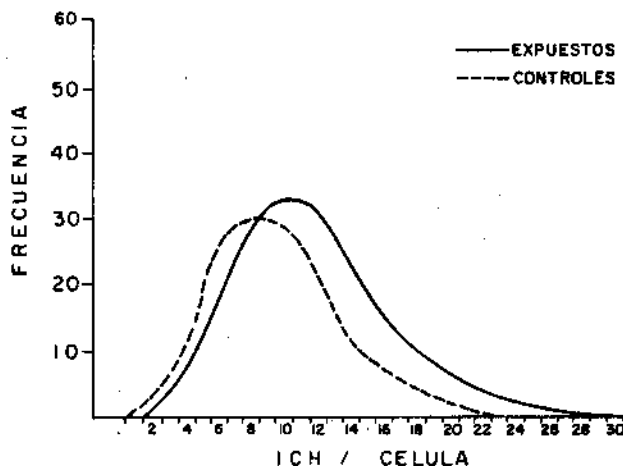


Fig. 4. Curvas de distribución de las frecuencias de ICH/metáfase en personas expuestas y controles.

radioisótopos utilizados en análisis hormonales por radioinmunoensayo y por su misma actividad expuestos a la inhalación de distintos solventes como cloroformo, tolueno y benceno. Los autores¹⁴ refieren diferencias significativas entre controles y personal expuesto y entre los niños controles y los hijos de madres expuestas, siendo las diferencias encontradas por estos autores, mayores aún que las que se observan en el presente trabajo. También ha sido comunicado un aumento significativo de la frecuencia de aberraciones cromosómicas en individuos expuestos accidentalmente a cantidades bastantes mayores de ^{125}I de las calculadas para los integrantes del grupo aquí estudiado.¹⁷

Es imposible desconocer por otro lado, el hecho de que el número de individuos examinados fue pequeño y más aun cuando se les subagrupa. Sin embargo, los resultados son sumamente sugestivos y más aun si se tiene en consideración que el ^{125}I y el ^{131}I , están clasificados por los Institutos Nacionales de Salud de los Estados Unidos de Norteamérica, de acuerdo con la relativa radiotoxicidad por unidad activa, como de gran toxicidad, mientras que el ^{90}Mo y el ^{99}Tc se ven como de moderada y leve toxicidad respectivamente.

Considerando lo expuesto, los resultados obtenidos sugieren que muy probablemente la exposición a estos elementos radiactivos, y más especialmente al ^{125}I y al ^{131}I , en dosis pequeñas pero en forma crónica, representa un riesgo potencial a ser tenido en cuenta, que obliga a extremar los cuidados necesarios para evitar el uso descuidado e incorrecto de estos radioisótopos.

Agradecimientos

Los autores agradecen la colaboración técnica de Lourdes

REFERENCIAS

1. Muller, H. J.: *Artificial transmutation of the gene*. Science 66: 84, 1927.
2. Buckton, K. E. y Evans, H. J.: *Methods for the analysis of human chromosome aberrations*. Ginebra, World Health Organization, 1973.
3. Zakharov, A. F. y Egorina, N. A.: *Differential spiralization along mammalian mitotic chromosomes. I. BUdR-revealed differentiation in Chinese hamster chromosomes*. Chromosoma 38: 341, 1972.
4. Latt, S. A.: *Microfluorometric detections of deoxyribonucleic acid replication in human metaphase chromosomes*. Proc. Natl. Acad. Sci. 70: 3395, 1973.
5. Perry, P. y Wolff, S.: *New Giemsa method for the differential staining of sister chromatids*. Nature 251: 156, 1974.
6. Latt, S. A.: *Sister chromatid exchanges, indices of human chromosomes damage and repair: detection by fluorescence and induction by mitomycin C*. Proc. Natl. Acad. Sci. 71: 3162, 1974.
7. Solomon, E. y Bobrow, M.: *Sister chromatid exchanges a sensitive assay of agents damaging human chromosomes*. Mutation Res. 30: 273, 1975.
8. Kato, H.: *Induction of sister chromatid exchanges by chemical mutagens and its possible relevance to DNA repair*. Exptl. Cell. Res. 85: 239, 1974.
9. Perry, P. y Evans, H. J.: *Cytological detection of mutagen-carcinogen exposure by sister chromatid exchange*. Nature 258: 121, 1975.
10. Gatti, M. y Olivieri, G.: *The effect of X-ray on labelling pattern of M_1 and M_2 chromosomes in Chinese hamster cells*. Mutation Res. 17: 101, 1974.
11. Korenberg, J. R. y Freedlander, E. F.: *Giemsa techniques for the detection of sister chromatid exchanges*. Chromosoma 48: 355, 1974.
12. Kato, H.: *Induction of sister chromatid exchanges by UV light and its inhibition by caffeine*. Exptl. Cell Res. 82: 383, 1973.
13. Wolff, S.; Bodycote, J. y Painter, R. B.: *Sister chromatid exchanges induced in Chinese hamster cells by UV irradiation of different stages of the cells cycle: the necessity for cells to pass through S*. Mutation Res. 25: 73, 1974.
14. Funes-Cravioto, F.; Kolmodin-Hedman, B.; Lindstein, J.; Nordensjold, M.; Zapata-Gayón, C.; Lambert, B.; Norberg, E.; Olin, R. y Swensson, A.: *Chromosome aberrations and sister-chromatid exchange in workers in chemical laboratories and rototyping factory and in children of women laboratory workers*. Lancet 1: 322, 1977.
15. Kusyk, Ch. J. y Hsu, T. C.: *Mitotic anomalies induced by three inhalation halogenated anesthetics*. Envir. Res. 12: 366, 1976.
16. Brown, R. F. y Wu, Y.: *Induction of sister chromatid exchanges in Chinese hamster cell by chlorpropamide*. Mutation Res. 58: 215, 1977.
17. Wald, N. y Pan, S.: *A pilot study of the relationship between chromosome aberrations and occupational external and internal radiation exposure*. En: *Human radiation cytogenetics*. Evans, H.J.; Court-Brown, W.M. y McLean, A. S. (Eds.). Nueva York, John Wiley & Sons, Inc., 1967.