

Efectos citogenéticos por exposición ocupacional a citostáticos

Anibal Domínguez Odio,¹
Alexander Batista Duharte,²
Deyanira Carnesoltas,³
Lázaro Ibrahim
Romero García,⁴
Esperanza Lóriga Loaces,⁵
Danys Cuello Almarales,⁶
Yailin Landrove Mora,⁶
Liset García Cabrera⁷

RESUMEN

Los citostáticos representan un gran peligro toxicológico ya que están diseñados para originar la muerte celular, sin diferenciar entre células sanas y cancerosas. Este trabajo tuvo como objetivo identificar las relaciones entre la actividad laboral realizada y la aparición de aberraciones cromosómicas y atipias celulares. Para lograrlo, se realizó un estudio observacional analítico de cohorte en personal de enfermería expuesto y no expuesto a medicamentos antineoplásicos, perteneciente a un Servicio Médico de Quimioterapia, el cual incluyó investigaciones genéticas (ensayo de micronúcleos en células exfoliadas de la mucosa oral y aberraciones cromosómicas en linfocitos de sangre periférica). Los resultados indicaron sólo un incremento de la frecuencia de micronúcleos (63.55 %) y atipias nucleares (cariólisis 401.63 % y cromatina condensada 372.66 %) en células exfoliadas de las enfermeras expuestas. Se precisó una dependencia estadísticamente significativa entre exposición ocupacional a citostáticos y alteraciones citogenéticas en células exfoliadas ($\chi^2 = 14.84$ [0.87; 8.59], $p < 0.05$). Se concluye que la manipulación de citostáticos representa un riesgo genético para los trabajadores expuestos.

SUMMARY

Cytostatics represent a great toxicologic danger to those exposed because they are designed to initiate cellular death, without differing between healthy and cancerous cells. For that reason, our objectives for the study were to identify any existing relationship between the frequency of appearance of chromosomal aberrations and atypical cells, with the job-related activities carried out in exposed workers. Data were obtained using an analytic observational cohort study in exposed and nonexposed workers to antineoplastic medication, working in the Medical Service of Chemotherapy. The study included genetic investigations (micronuclei in exfoliated cells of the oral mucosa and chromosomal aberrations in peripheral blood lymphocytes). The results obtained indicate only that there are increases in micronuclei frequency (63.55 %) and nuclear atypical frequency (karyolysis, 401.63 % and condensed chromatin, 372.66 %) in exposed nurses when compared to the nonexposed nurses for buccal cells. In addition, a statistically significant difference was also demonstrated among occupational workers exposed to cytostatics and cytogenetic alterations in exfoliated cells ($\chi^2 = 14.84$ [0.87; 8.59] $p < 0.05$). We conclude that the use of cytostatics carries a genetic risk for exposed workers.

Introducción

Una gran proporción de carcinógenos conocidos se encuentra en ambientes de trabajo. Las exposiciones en los mismos han sido y son más altas que aquellas en el ambiente general. En principio, las exposiciones ocupacionales pueden ser reguladas, minimizadas o eliminadas fácilmente, por lo tanto, los carcinógenos ocupacionales presentan un potencial de prevención enorme, el cual es muy importante en términos de salud pública.^{1,2}

Uno de los grupos de fármacos que más preocupa a los profesionales del ámbito sanitario son los citostáticos, ya que su acción está dirigida a frenar la proliferación o el crecimiento celular; a dosis terapéuticas son responsables de efectos genotóxicos para quien los recibe. Se piensa que la exposición reiterada durante su manipulación puede causar mutaciones, inmunotóxicidad y cáncer, debido a que estos medicamentos están diseñados para originar modificaciones estructurales del genoma y alterar los mecanismos de división en células

¹Jefe del Laboratorio de Genética Toxicológica
²Subdirector de Investigaciones
³Máster en Toxicología Experimental, Instituto Nacional de Oncología y Radiología
⁴Especialista de primer grado en Bioestadística, Hospital Provincial Clínico Quirúrgico y Docente "Saturnino Lora"
⁵Máster en Toxicología Experimental
⁶Estudiantes de la carrera de Biología
⁷Especialista de primer grado en Fisiología Normal y Patológica, Instituto Superior de Ciencias Médicas

Autores 1, 2 y 5 adscritos al Centro Nacional de Toxicología
Autores 6 y 7 adscritos a la Universidad de Oriente Santiago de Cuba, Cuba

Comunicación con:
Anibal Domínguez Odio.
Tel.: (53 022) 644 095,
fax (53 022) 643 864 y 687 188.
Dirección electrónica:
odio@toxi.scu.sld.cu

Palabras clave

- ✓ citostáticos
- ✓ genotoxicidad
- ✓ célula exfoliada

Key words

- ✓ cytostatic
- ✓ genotoxicity
- ✓ exfoliated cells

que se multiplican rápidamente, sin diferenciar entre sanas y cancerosas.³⁻⁵ Por eso, la médula ósea, sistema linfopoyético, epitelio gastrointestinal alto, piel, raíces pilosas, epitelio germinal de las gónadas y estructuras embrionarias son los más afectados.

En consecuencia, estos medicamentos representan un gran peligro toxicológico que puede afectar al manipulador, al enfermo y al medio ambiente. Algunos estudios indican que puede producirse contaminación biológica en los trabajadores expuestos ocupacionalmente,⁵ por lo que es de vital importancia la detección e identificación de los cambios preneoplásicos moleculares o celulares en el personal manipulador, pues ocurren durante la fase latente de la enfermedad y pueden influir en el diagnóstico precoz.⁶ Para lograrlo, en la práctica habitual es común la utilización de diversos ensayos *in vitro* e *in vivo*, pues ninguna prueba es capaz de detectar por sí sola todos los efectos genotóxicos.⁷

Dentro de las diferentes técnicas que reconocen las primeras señales de alarma emitidas por las células expuestas a sustancias genotóxicas están la prueba de micronúcleos en células exfoliadas de la mucosa bucal humana⁸ y el cultivo *in vitro* de linfocitos de sangre periférica.^{9,10} Con ellos se valora en su justa medida la importancia de los distintos factores endógenos en la modulación de la respuesta mutagénica, ante la acción de cualquier sustancia química.

Dada la importancia del conocimiento de los efectos adversos de tales sustancias, se realizaron diversas pruebas siguiendo los criterios internacionales más actualizados en el tema.¹¹ El objetivo de esta investigación fue identificar las relaciones entre la actividad laboral realizada y la aparición de aberraciones cromosómicas y atipias celulares.

Material y métodos

Se efectuó un estudio observacional analítico de cohorte con enfermeras adscritas al Hospital Oncológico Provincial “Conrado Benítez” de Santiago de Cuba, el cual actualmente emplea numerosos agentes antineoplásicos (cuadro I).

Se conformaron dos cohortes, cuyos integrantes fueron distribuidos a conveniencia:

1. *Cohorte de individuos expuestos*: 11 trabajadoras expuestas durante sus actividades laborales a citostáticos, pertenecientes al servicio médico asistencial de quimioterapia, más de tres años en el servicio y edad promedio 39 años.
2. *Cohorte de individuos no expuestos*: 11 trabajadoras no manipuladoras de productos antineoplásicos y edad promedio 39 años.

También se obtuvo información sobre la edad y la presencia de hábitos tóxicos (alcohol y tabaquismo), a través de una encuesta aplicada por entrevista directa con las enfermeras.

Como criterios de inclusión se exigió de los integrantes de los grupos:

- No haber padecido recientemente infecciones virales o bacterianas.
- No haber recibido radiaciones de cara y cuello en los últimos 6 meses antes del estudio.
- No haber ingerido drogas legales e ilegales o algún medicamento (antiparasitarios, antibacterianos, etcétera) en los 25 días previos.

Por su parte, el grupo de trabajadoras no expuestas estuvo conformado por invitación, excluyendo aquéllas con diagnóstico presuntivo o

Cuadro I
Medicamentos antineoplásicos utilizados en el servicio médico asistencial de quimioterapia sujeto a estudio

Agentes alquilantes	Antimetabolitos	Productos naturales	Agentes diversos	Hormonas y antagonistas
Busulfán	Metotrexato	Actinomicina D	Cisplatino	Tamoxifeno
Ciclofosfamida	5-fluorouracilo	L-asparginasa	Hidroxiurea	
Cloranbucil	Mercaptopurina	Bleomicina	Procarbazona	
Melfalán	Tioguanina	Citarabacina	Corboplastino	
		Vincristina		
		Vinplastina		

confirmativo de embarazo, enfermedades degenerativas o cáncer. Del colectivo potencialmente dispuesto a participar en el estudio, fueron eliminadas quienes habían estado expuestas previamente a cualquier agente sospechoso de genotoxicidad, incluyendo alcohol y tabaco.

Las muestras de sangre y células exfoliadas de la mucosa bucal fueron obtenidas según los procedimientos específicos para cada caso y manipuladas conforme a las normas éticas establecidas en la Declaración de Helsinki. Las participantes firmaron cartas de consentimiento informado.

Estudio genético

1. Prueba de micronúcleos en células exfoliadas de la mucosa oral.

Luego de un enjuague vigoroso de la cavidad bucal, se realizó raspado de la parte interna de las mejillas con aplicadores de madera. Las células exfoliadas se depositaron en tubos de ensayos que contenían 2 y 3 mL de solución salina (0.9 %). Posteriormente se centrifugó y retiró el sobrenadante, para añadir 2 y 3 mL de solución fijadora por 20 minutos. Transcurrido ese tiempo se efectuó el goteo del material en suspensión en láminas secas, previamente embebidas en etanol a 96 %, se dejó secar al aire y se tiñó con Giemsa a 5 %. Luego se procedió al análisis de micronúcleos y atipias nucleares (binucleación, picnosis, cromatina condensada y kariólisis). El análisis microscópico lo realizó un mismo investigador que desconocía el grupo al que pertenecían las muestras. Se observó un mínimo de 1000 células consecutivas por trabajador; cuando la frecuencia de micronúcleos fue menor de 3/1000, se evaluó un máximo de 3000 células para disminuir la probabilidad de que la ausencia de micronúcleos se debiera a un evento azaroso.

2. Cultivo *in vitro* de linfocitos de sangre periférica.

De cada trabajador se obtuvieron muestras de sangre heparinizada y antes del cultivo se centrifugaron 5 mL de la misma, descartándose el sobrenadante, para eliminar el plasma y posteriormente homogeneizar los cultivos. El volumen original se restituyó añadiendo medio de cultivo RPMI 1640. Se tomaron finalmente 0.5 mL de la sangre preparada, la cual fue añ-

didada a un medio de cultivo suplementado con 15 % de suero fetal de ternera inactivado, 1 % de antibióticos (penicilina y estreptomina) y 1 % de L-glutamina. Los linfocitos fueron estimulados a dividirse añadiendo en el medio fitohemaglutinina a 1 %. Pasadas 48 horas, las células se recolectaron mediante centrifugación, se lavaron en medio RPMI 1640 y se les aplicó choque hipotónico suave (dos a tres minutos en 0.0075 M KCl a 32 °C). Las células se centrifugaron de nuevo y se les añadió suavemente una solución fijadora, repitiendo este paso dos veces. Las preparaciones se dejaron secar a temperatura ambiente y se tiñeron con Giemsa a 10 %, preparado en tampón fosfato (pH 6.8) durante 20 minutos.

Procesamiento estadístico

Para el análisis de las variables de interés se compararon las medias aritméticas de las observaciones procedentes de la población expuesta y de la no expuesta entre sí, por medio de la prueba de Wilcoxon-Mann Whitney (nivel de significación = 0.05). Posteriormente fueron calculados los porcentajes como medida de resumen de variables cualitativas, calculando el riesgo relativo (RR) según la siguiente fórmula:

$$RR = \frac{\frac{a}{a+b}}{\frac{c}{c+d}}$$

a = frecuencia de parámetros alterados (micronúcleos y atipias nucleares) en la cohorte de los individuos expuestos.

b = frecuencia de parámetros no alterados en la cohorte de los individuos expuestos.

c = frecuencia de parámetros alterados (micronúcleos y atipias nucleares) en la cohorte de los no expuestos.

d = frecuencia de parámetros no alterados en la cohorte de los no expuestos.

Finalmente, para identificar asociaciones estadísticamente significativas del riesgo relativo, fue empleada la prueba χ^2 de Mantel-Haenzel, incluyendo el intervalo de confianza. Se consideró un resultado estadísticamente significativo cuando se obtuvo una $p < 0.05$.

Resultados y discusión

Se observó importante incremento porcentual de la frecuencia de micronúcleos (63.55 %) y atipias nucleares en las células exfoliadas del personal expuesto comparado con el no expuesto (cuadro II). Por su alto incremento sobresalieron la cariólisis (401.63 %) y la cromatina condensada (372.66 %). Resulta importante señalar que dicha elevación no estuvo asociada al consumo de alcohol y al hábito de fumar. Es interesante señalar que en el grupo expuesto bastó con mil células contadas para encontrar una frecuencia superior de micronúcleos por encima de los niveles basales, no así en el no expuesto, donde fue necesario contabilizar tres mil células consecutivas por trabajador.

La estimación de la frecuencia de micronúcleos (cuadro II) proporcionó una oportunidad para investigar las aberraciones cromosómicas inducidas por la exposición ocupacional a bajas dosis de citostáticos, y con ello identificar prematuramente lesiones preneoplásicas.¹²⁻¹⁴ Se evidenció la capacidad de estos medicamentos para provocar eventos aneugénicos o clastogénicos en células exfoliadas de la mucosa bucal, tal como se ha indicado en otros estudios internacionales.^{15,16}

En nuestro caso se identificó igualmente incrementos estadísticamente significativos de micronúcleos en el personal expuesto a medicamentos antineoplásicos respecto al no expuesto. Estos resultados ponen en evidencia que la exposición ocupacional a los citostáticos comúnmente manipulados en el servicio induce afectaciones citogenéticas heterogéneas. La bleomicina (con su capacidad para causar escisión de cadenas y frag-

mentación de moléculas de ADN), la vinplastina (por su poder de destrucción de los microtúbulos celulares, provocando que los cromosomas se dispersen por todo el citoplasma)¹⁷ y la antracilinas (generadoras de radicales libres), por sólo citar algunos fármacos, son las principales responsables de las alteraciones cromosómicas que conducen a la formación de micronúcleos, y con ello no sólo al incremento de la posibilidad de pérdidas de fragmentos acéntricos de cromosomas, sino de cromosomas enteros, los cuales jamás se incorporan al núcleo principal.¹⁸

Por otra parte, los altos incrementos en la frecuencia de cariólisis y cromatina condensada identificados en las células exfoliadas, posiblemente se deben a profundas alteraciones en la integridad y estabilidad del genoma, inducidas por la exposición a estos medicamentos. Esta agresión alcanza tal nivel que parece activar la apoptosis, asociada a una serie de características morfológicas y cambios bioquímicos, que en esencia es la base de nuestra afirmación y está directamente relacionada con la activación de una cascada de proteasas denominadas caspasas.¹⁹ También se asocia con la activación de una nucleasa que degrada al ADN en fragmentos de tamaño nucleosomal imposible de reparar. De forma simultánea se observan cambios morfológicos como las condensaciones nucleares y citoplasmáticas, de manera que la célula se fragmenta y muere.²⁰

Los citostáticos que actualmente se utilizan de forma rutinaria en el servicio (cuadro I) pueden actuar a lo largo del ciclo celular y provocar gran variedad de efectos sobre el material genético de las células expuestas. Los agentes alquilantes,

Cuadro II
Frecuencia de micronúcleos y atipias nucleares en células exfoliadas de la mucosa bucal en un grupo expuesto a citostáticos y en otro no expuesto

Indicadores	Frecuencia x 1000 células		Incremento (%)
	Grupo expuesto	Grupo no expuesto	
Micronúcleo	7.36 ^b	4.50 ^a	63.55
Binucleación	8.09 ^b	4.66 ^a	73.60
Picnosis	5.09 ^a	4.16 ^a	22.35
Cariólisis	9.18 ^b	1.83 ^a	401.63
Cromatina C.	7.09 ^b	1.50 ^a	372.66

Superíndices diferentes difieren entre sí para p < 0.05.

por ejemplo, son capaces de interactuar con distintos puntos activos de la molécula de ADN, produciendo cambios estructurales con la introducción de grupos alquílicos.¹⁷ Otros fármacos, como los antimetabolitos y los antibióticos antitumorales, afectan la integridad y la estabilidad del genoma, a tal punto que provocan la muerte celular.²¹

Sea cual sea el medicamento, los genes implicados en el control de la proliferación celular —diferenciación y muerte celular programada⁴— pudieron ser blanco de sus ataques, provocando alteraciones de la información genética, que de persistir o acumularse secuencialmente en la célula somática dañada pueden conducir al aumento de la frecuencia de atipias nucleares, de su potencial de crecimiento y de su malignidad.²²

En este contexto nuestra investigación, hasta donde sabemos, es la primera que se realiza en Cuba y proporciona elementos que confirman la utilidad de las células epiteliales para estudios de monitorización biológica en poblaciones laborales expuestas a medicamentos antineoplásicos, no sólo por su ubicación anatómica, que les permite ser diana de las agresiones de estas sustancias, sino porque poseen una elevada cinética de reemplazamiento, lo que las hace particularmente vulnerables al daño ocasionado por los xenobióticos,* entre los que están los antineoplásicos.

Respecto a la inducción de aberraciones cromosómicas utilizando linfocitos de sangre periférica (cuadro III), no parece existir anomalías cromosómicas numéricas y estructurales atribuibles a la exposición ocupacional a los citostáticos. En este punto específico existen resultados internacionales contradictorios: por un lado, se ha reportado que la manipulación de estos medicamentos trae como consecuencia efectos genotóxicos para las enfermeras expuestas;^{16,23,24} por otro lado, algunos investigadores no encuentran diferencias significativas entre el grupo expuesto y el control.²⁵ El tema sobre la posible inducción de daño genético en linfocitos de sangre periférica de enfermeras expuestas a citostáticos es aún polémico.

En este sentido es importante tomar en cuenta que la información procedió de enfermeras que no laboran en unidades centralizadas para la preparación de estos medicamentos, a diferencia de la informada en otros estudios.^{16,23,24,25} La negatividad de los resultados obtenidos puede atribuirse, al menos de forma parcial, a ciertos elementos de gran significación biológica:

- a) Los niveles de exposición fueron tan bajos que resultó imposible apreciar los efectos genotóxicos en los linfocitos.
- b) Dichos daños, de existir, son reparados antes de convertirse en aberraciones cromosómicas detectables.
- c) La adopción de medidas protectoras para disminuir el riesgo derivado de la preparación-administración de estos medicamentos en condiciones poco seguras.

Cuadro III
Aberraciones cromosómicas en linfocitos de sangre periférica

Cohortes	Aberraciones cromosómicas
Expuestos	No detectables
No expuestos	No detectables

En otro orden de cosas, se identificó una dependencia estadísticamente significativa entre exposición ocupacional a citostáticos y alteraciones citogenéticas ($\chi^2 = 14.84$ [0.87; 8.59], $p < 0.05$), lo que corrobora los resultados planteados anteriormente. Por su parte, el cálculo del riesgo relativo (RR) precisó que el riesgo de ocurrencia de afectaciones citogenéticas por encima de los niveles basales en el personal expuesto es 2.73 veces más probable que en el no expuesto. Tal aseveración reafirma la necesidad de que todo el personal vinculado con la manipulación de estos medicamentos debe someterse periódicamente a revisión médica durante el tiempo que esté en contacto con ellos.

Además del interés intrínseco de los resultados presentados en este trabajo —que indica la existencia de daño genético en células exfoliadas de la mucosa bucal asociado a la manipulación de citostáticos (lo que puede suponer la génesis de efectos secundarios en los trabajadores investigados)—, pueden ser importantes en la estimación de riesgo carcinogénico en el personal con exposición ocupacional, pues es bastante prolongado el periodo entre la determinación del daño genético y la aparición de cáncer. Los resultados pueden considerarse de alto valor predictivo, aun cuando se desconozcan los niveles reales de exposición.²⁶

* Vargas J. Evaluación de la frecuencia de micronúcleos en células uroepiteliales de individuos con exposición ambiental a arsénico. Trabajo para obtener por el título de Licenciado en Ciencias Biológicas, México, Universidad Nacional Autónoma de México, 1995.

Conclusiones

1. Existe un claro incremento del daño citogénico, demostrado sobre todo en la prueba de micronúcleos en células exfoliadas de la mucosa oral, el cual pudiera estar asociado con la manipulación prolongada de citostáticos.
2. La prueba de micronúcleos en células exfoliadas de la mucosa oral humana parece ser útil en la estimación del daño inducido en poblaciones expuestas laboralmente a citostáticos.

Referencias

1. Pisani P. Burden of cancer in developing countries. En: Pearce N, Matos E, Vainio H, Boffetta P, Kogevinas M, editors. Occupational cancer in developing countries. Lyon, Italy: IARC Scientific Publication; 1994. p. 129.
2. Matos LE. Riesgo de cáncer en exposiciones ocupacionales. *Rev Gerencia Ambiental* 1997;5(33):36-42.
3. Sindicato de Enfermería de España. Guía para el manejo seguro de citostáticos. 2000. Disponible en: www.satse.es/salud-laboral/guia-manejo-citostaticos.htm. Fecha de consulta: 14 de junio del 2003.
4. Patiño A, López R, Sierrasesúmaga L. Alteraciones genéticas inducidas por los tratamientos antitumorales en pacientes pediátricos con cáncer: carcinogénesis química. Disponible en: www.cfnavarra.es/salud/anales/textos. Fecha de consulta: 20 de junio de 2003.
5. Martínez MT, García F, Hernández MJ. Citostáticos 2002. Disponible en: www.um.es/eglobal/1/pdf/01e05.pdf. Fecha de consulta: 14 de junio del 2003.
6. Indulski JA, Lutz W. The biomarkers detecting early changes in the human organism exposed to occupational carcinogens. *Cent Eur J Public Health* 1999;7(4):221-224.
7. Barrueco C, Guadaño A, Caballo C, Herrera A, Valcarse E, De la Peña E. Evaluación mutagénica y genotóxica de los productos químicos. En: De la Peña E, Burguete I, Guadaño A, editores. Evaluación mutagénica y genotóxica. Barcelona, España: Sociedad Española de Mutagénesis Ambiental; 1998. p. 271-282.
8. Marcos R, Carbonell E, Creus A, Galofré P, Gutiérrez S, Ramírez, MJ, Surrals J. Evaluación del riesgo genético asociado a la exposición terapéutica al I 131. En: De la Peña E, Burguete I, Guadaño A, editores. Evaluación mutagénica y genotóxica. Barcelona, España: Sociedad Española de Mutagénesis Ambiental; 1998. p. 195-231.
9. González JM, Borroto JI, Creus A, Marcos R. Genotoxic evaluation of the furylethylene derivative 2-furyl-1-nitroethene in cultured human lymphocytes. *Mutat Res* 2001;497(1-2):177-184.
10. Marques S, Oliveira, NG, Chaveca T, Rueff J. Micronuclei and sister chromatid exchanges induced by capsaicin in human lymphocytes. *Mutat Res* 2002;517(1-2):39-46.
11. Turci R, Sttani C, Spagnoli G, Minoia C. Biological and environmental monitoring of hospital personnel

exposed to antineoplastic agents: a review of analytical methods. *Chromatography J B* 2003;789(2003):169-209.

12. Desai SS, Ghaisas SD, Jakhi SD, Bhide SV. Cytogenetic damage in exfoliated oral mucosal cells and circulating lymphocytes of patients suffering from precancerous oral lesions. *Cancer Lett* 1996;109(1-2):9-14.
13. Bloching M, Hofmann A, Lautenschlager C, Berghaus A, Grummt T. Exfoliative cytology of normal buccal mucosa to predict the relative risk of cancer in the upper aerodigestive tract using the MN-assay. *Oral Oncol* 2000;36(6):550-555.
14. Majer BJ, Laky B, Knasmuller S, Kassie F. Use of the micronucleus assay with exfoliated epithelial cells as a biomarker for monitoring individuals at elevated risk of genetic damage and in chemoprevention trials. *Mutat Res* 2001;489(2-3):147-172.
15. Machado-Santelli GM, Cerqueira EM, Oliveira CT, Pereira CA. Biomonitoring of nurses handling antineoplastic drugs. *Res Mut* 1994;322(3):203-208.
16. Burgaz S, Karahalil B, Canhi Z, Terzioglu F, Ancel G, Anzion R, et al. Assessment of genotoxic damage in nurses occupationally exposed to antineoplastics by the analysis of chromosomal aberrations. *Hum Exp Toxicol* 2002;21(3):129-135.
17. Goodman SL, Gilman A. Las bases farmacológicas de la terapéutica. Novena edición. México: Interamericana McGraw-Hill; 1996.
18. Castaño A, Llorete MT, Sánchez P. Inducción de micronúcleos en células de peces por benzo (a) pireno: detección por citometría de flujo. En: De la Peña E, Burguete I, Guadaño A, editores. Evaluación mutagénica y genotóxica. Barcelona, España: Sociedad Española de Mutagénesis Ambiental; 1998. p. 137-149.
19. Wang XM, Yu SF, Yang ZP. Apoptosis of osteoclast-like cells induced by alendronate is related to Fas gene expression. *Chin J Dent Res* 2002;3(2):26-32.
20. Lacal JC. Apoptosis y sus implicaciones clínicas en oncología. *Rev Ven Oncol* 1998;10(1):50-56.
21. Flórez J. Quimioterapia antineoplásica I. En: Flórez J, editor. Farmacología humana. Barcelona, España: Masson; 1997. p. 1019-1023.
22. Hidalgo A. Actualización y avances en investigación. Unidad de Medicina Experimental 2001. Disponible en: www.hospitalitaliano.org.ar/español/docencia/nexo/19-2/. Fecha de consulta: 22 de junio del 2003.
23. Sardas S, Gok S, Karakaya AE. Sister chromatid exchanges in lymphocytes of nurses handling antineoplastic drugs. *Toxicol Lett* 1991;55(3):311-315.
24. Anwar WA, Salama SI, Serafy MM, Hemida SA, Hafez AS. Chromosomal aberrations and micronucleus frequency in nurses occupationally exposed to cytotoxic drugs. *Mutagenesis* 1994;9 (4): 315-317.
25. Pilger A, Kohler I, Stettner H, Mader RM, Rizovski B, Terkola R. Long-term monitoring of sister chromatid exchanges and micronucleus frequencies in pharmacy personnel occupationally exposed to cytostatic drugs. *Int Arch Occup Environ Health* 2000;73(7):442-448.
26. Domínguez AO, Loriega EL, Ortega YS. Diagnóstico de micronúcleos en células bucales en biomonitorización carcinogénica de toxicómanos. *Rev Cub Farm* 2002; 36(2):196-198. **fm**