

*Artículo de Investigación Científica o Tecnológica*

## Micronúcleos y otras anormalidades nucleares en células de mucosa bucal como biomarcadores de genotoxicidad y citotoxicidad en personal expuesto a gases anestésicos

Micronuclei and other nuclear abnormalities in oral mucosal cells as biomarkers of genotoxicity and cytotoxicity in personnel exposed to anesthetic gases

Olivia Torres Bugarín <sup>1</sup>, María L. Ramos Ibarra <sup>2</sup>, Catherine S. Carrillo Gómez <sup>3</sup>, José L. Zavala-Aguirre <sup>4</sup>

Recibido: 10 diciembre 2015

Aceptado para publicación: 15 marzo de 2016

### RESUMEN

**Introducción:** El daño a la salud asociado a exposición ocupacional de anestésicos es controversial, se ha encontrado toxicidad reproductiva, afección de órganos, cáncer y genotoxicidad.

**Objetivo:** Evaluar la frecuencia de micronúcleos y otras anormalidades nucleares en células de mucosa bucal de personal expuesto a gases, como marcadores de genotoxicidad y citotoxicidad.

**Métodos:** Se colectaron 164 muestras de mucosa bucal de 81 anestesiólogos que laboraban en diferentes hospitales en México, 43 personas sanas no expuestas y sin toxicomanías, y 40 pacientes tratados con antineoplásicos. Se preguntó hábitos, lugar y horas de trabajo, sistemas de eliminación de gases del centro de trabajo y datos que podrían influir en los resultados. Se realizaron frotis de mucosa bucal mediante un raspado suave, se dejaron secar, se fijaron con etanol al 80% y se tiñeron con orceína y verde rápido. Al microscopio (100X), por muestra se analizaron 2,000 células, se identificaron células micronucleadas (CMN) y anormalidades nucleares (AN) [binucleadas (CBN), núcleo lobulado (NL), cariorrhexis (CR), cromatina condensada (CC), picnosis (PN) y kariólisis (CL)].

**Resultados:** La frecuencia de CMN es mayor en anestesiólogos que en no expuestos, [2.8 (1.9)/ 0.7(0.7)/ 1,000 células, ( $p$ : <0.001)]. Independiente de tiempo de exposición, lugar de trabajo, edad o sexo, en el 86.4% de anestesiólogos se observó micronucleogenicidad y en el resto citotoxicidad.

**Conclusiones:** La exposición ocupacional a gases anestésicos en el ambiente hospitalario mexicano induce daño genotóxico y citotóxico evidenciado por presencia de MN y AN en células exfoliadas de mucosa bucal, por ello se sugiere reforzar las medidas de seguridad.

**Palabras clave:** Gases anestésicos, genotoxicidad, citotoxicidad, micronúcleos, anormalidades nucleares

### ABSTRACT

**Introduction:** Associated damage to health during occupational exposition is a controvert issue. It has been reported either reproductive toxicity, affections to organs, cancer and genotoxicity.

**Objective:** To evaluate micronuclei and other nuclear abnormalities frequencies at epithelial mouth cells from people exposed to anesthetic gasses as genotoxicity and cytotoxicity markers.

**Methods:** We gathered a total of 164 epithelial mouth samples from 81 anesthesiologists from different Mexican Health clinics across, 43 health people not exposed and with no addictions and 40 patients receiving antineoplastic drugs. The survey included questions related with habits, work location and schedules and general data that could be related with results. Epithelial cell smears were obtained with gentle scraping, dried and fixed with 80% ethylic alcohol and stained with orcein and fast green. We analyzed 2,000 cells from each sample under microscope (100x) and counted for Micronucleated cells (CMN) and Nuclear abnormalities (AN) [Binucleated (CBN), Lobulated nucleus (NL), Karyorrhexis (CR), condensed chromatin (CC), Pyknosis (PN) and Karyolysis (CL)].

**Results:** Counts from anesthesiologists MN were statistically higher than not exposed [2.8(1.9)/ 0.7(0.7)/ 1,000 cells, ( $p$ : <0.001)]. No matter of exposition time, age or sex, 86% of the anesthesiologists presented micronucleus genotoxicity and the complement presented cytotoxicity.

**Conclusions:** Occupational exposition to anesthetic gases at Mexican health clinics system induces genotoxic and cytotoxic damage been evident by the MN and AN count at mouth epithelial cells. We highly recommend increasing security measures.

**Key words:** Anesthetic gas, genotoxicity, cytotoxicity, micronuclei, nuclear abnormalities

<sup>1</sup>Doctora en Ciencias. Laboratorio de Evaluación de Genotóxicos, Programa Internacional de Medicina, Universidad Autónoma de Guadalajara. Zapopan, Jalisco, México. Profesor Investigador, S N I nivel I School of Medicine Universidad Autónoma de Guadalajara. Av. Patria 1201, Col. Lomas del Valle, C.P. 45129, Zapopan, Jalisco, México. Apdo. Postal 1-440. Tel 01 (33) 3648 8824 ext 33152. [oliviatorres@hotmail.com](mailto:oliviatorres@hotmail.com)

<sup>2</sup> Doctora en Ciencias. División de Ciencias Veterinarias, Departamento Salud Pública, Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias, Universidad de Guadalajara, 45221. Zapopan, Jalisco, México.

<sup>3</sup> Estudiante de Licenciatura en Nutrición. Universidad Autónoma de Guadalajara. Zapopan, Jalisco, México.

<sup>4</sup> Doctor en Ciencias. Departamento de Ciencias Ambientales, Facultad de Ciencias Químico-Biológicas, Universidad Autónoma de Guadalajara. Zapopan, Jalisco, México.

## INTRODUCCIÓN

La prueba de micronúcleos (MN), detecta el efecto de agentes genotóxicos mediante la identificación de fragmentos acéntricos y/o cromosomas rezagados, que al quedar fuera del núcleo forman estas estructuras.<sup>1,2</sup> Esta prueba, detecta agentes clastogénicos (que fracturan cromosomas) y aneuploidógenos (que afectan el huso mitótico)<sup>1,2</sup>, es posible aplicarla en animales de laboratorio<sup>3,4</sup> y silvestres,<sup>3,5</sup> en humanos,<sup>6,7</sup> así como en diversos tejidos por ejemplo en mucosa bucal.<sup>8,9</sup> Esta prueba permite evaluar genotoxicidad debida a diversas patologías como las autoinmunes<sup>10</sup> o por trastornos de la alimentación,<sup>11</sup> así como por exposición a quimioterapia,<sup>12</sup> por exposición ocupacional o ambiental, entre otros.<sup>13,14</sup> Y las anomalías nucleares, son biomarcadores de genotoxicidad y citotoxicidad particularmente los MN y los NL son marcadores de daño nuclear, las BN indican daño a la citocinesis y las CR, CC, PN y CL muestran muerte celular.<sup>7,10,13,15</sup>

Aplicar la prueba de micronúcleos en células de mucosa bucal brinda las ventajas de reflejar el efecto genotóxico ocurrido en las células de la capa basal de una manera directa, y da una aproximación para identificar y cuantificar el daño micronucleogénico en tejidos humanos que son blancos de carcinógenos órgano-específicos que podrían desarrollar cáncer. El trabajar con células epiteliales, también tiene el beneficio, que de manera paralela se valora el efecto genotóxico mediante el análisis de los cambios morfológicos nucleares como son modificaciones en el tamaño, densidad y distribución de la cromatina, alteraciones que se relacionan con células neoplásicas.<sup>7,14-16</sup>

Por otro lado, muchas ocupaciones en el ambiente hospitalario frecuentemente se encuentran relacionadas con la exposición a agentes genotóxicos, como ocurre con el personal de anfiteatros,<sup>17</sup> de medicina nuclear,<sup>18</sup> de radioterapia<sup>19</sup> o antineoplásicos.<sup>20</sup> No obstante, los riesgos para la salud asociados a la exposición ocupacional de gases anestésicos en cirugía o consultorios dentales no está suficientemente documentado y la información existente es contradictoria; como se observa en la Tabla 1, la situación es más discordante en cuanto a los posibles efectos cancerígenos y/o genotóxicos, unos estudios afirman haber encontrado relación entre la exposición a agentes genotóxicos y otros dicen lo opuesto.<sup>21,22</sup> Es por ello que la Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer (IARC) considera que las evidencias de carcinogenicidad de los anestésicos volátiles halogenados (halotano, enflurano, isoflurano y metoxiflurano) no son adecuadas, dando pie a mantener una estrecha vigilancia.<sup>22</sup>

Haciendo énfasis en los efectos genotóxicos de la inhalación por exposición ocupacional, éstos se han detectado mediante diferentes pruebas como se describe en la Tabla 1, tanto *in vivo* como *in vitro*, entre estas se encuentra la prueba cometa,<sup>23,24</sup> el intercambio de cromátidas hermanas (ICH).<sup>25-27</sup> aberraciones cromosómicas<sup>28,29</sup> y por supuesto la prueba de micronúcleos,<sup>24,26,28-30</sup> ésta última se estima como la más sensible para detectar el efecto tóxico al DNA debido a los gases anestésicos.<sup>28</sup>

Por todo esto, es que el presente trabajo busca evaluar el daño genotóxico ocurrido en personal mexicano expuesto a anestésicos para lo cual se aplicó la técnica de micronúcleos en células exfoliadas de mucosa bucal, por ser una metodología que refleja el efecto directo, sin necesidad de cultivos, económica, relativamente rápida y altamente informativa, a la par que es posible analizar otras anomalías nucleares que también reflejan eventos genotóxicos y citotóxicos.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Población de estudio

Durante el Congreso Mexicano de Anestesiología, se colectaron muestras de anesestiólogos activos (GRUPO 1), los participantes radicaban en diferentes partes de la República y por lo tanto laboraban en distintos centros hospitalarios (Tabla 2). Así mismo se colectaron muestras de personas adultas sanas no expuestas, sin toxicomanías ni consumo de café (GRUPO 2) y muestras de pacientes adultos con problemas oncológicos tratados con quimioterapia antineoplásica (QA) (GRUPO 3), estas muestras se tomaron el último día del ciclo de QA.

La toma de las muestras fue de personas voluntarias, a quienes se les informó de los objetivos del trabajo y estuvieron de acuerdo en participar y firmar su consentimiento. A cada participante se le aplicó un cuestionario en el que se preguntaba profesión, centro de trabajo, edad, patologías, consumo de tabaco, café, alcohol, vitaminas, anticonceptivos, hábitos alimenticios, administración de medicamentos, dosis y tiempo desde la última toma, y en su caso exposición y tipos de anestésicos utilizados. En el caso de los pacientes con cáncer se revisó su expediente y se entrevistó a su médico para conocer los antineoplásicos administrados y dosis.

### Preparación y análisis de muestras

Cada persona participante se enjuagó la boca con agua, con un portaobjeto limpio se raspó la mucosa bucal, se realizaron dos extendidos sobre portaobjetos, uno por mejilla. Los frotis se dejaron secar al aire, se fijaron en etanol al 80% por 48 h para proceder a la tinción con orceína y verde rápido.<sup>15</sup> Quien examinó las muestras desconocía el código de identificación, se analizaron bajo microscopía de fluorescencia (100x) Carl Zeiss Axiostar Plus®, por persona se contaron 2,000 células, se identificó la frecuencia CMN, BN, NL, CR, CC, PN, CL y anomalías totales (AT). Los resultados se expresan en 1,000 células.

### Análisis estadístico

Mediante el análisis de los índices estandarizados de sesgo y curtosis se determinó que los datos no presentan distribución normal ni homocedasticidad, por ello, en la comparación de grupos se aplicó la prueba de Kruskal-Wallis. Además de realizaron comparaciones múltiples mediante el procedimiento de Conover, el cual dicta que los datos se deben transformar por jerarquización para una posterior aplicación de la prueba LSD. Se realizó análisis multivariado con las observaciones de la población expuesta por medio de la prueba de Chi<sup>2</sup>

Tabla 1. Evaluación de la gentotoxicidad de gases anestésicos

Prueba/ Condición	Resultado		Significancia	País	Referencia
	Expuestos	No expuestos			
ICH	6.6 (2.4)	5.2 (1.6)	No	Turquía	25
ICH, Sevoflurane	6.6 (0.9)	5.1 (0.8)	0.001	Alemania	26
L-MN, Sevoflurane	9.5	8.5	No	Alemania	26
L-MN, [ANE]	14.0	11.3	0.05	Alemania	30
L-MN, [BNE]	9.8	10.5	No	Alemania	30
ICH	6.89	5.14	No	Croacia	27
L-MN	22.11	7.63	Si	Croacia	27
L-MN	33.8 (4.64)	7.78 (1.14)	0.05	Croacia	28
AB	1.64 (0.31)	0.66 (0.14)	0.05	Croacia	28
ICH	9.0 (1.3)	8.0 (1.4)	0.012	Austria	31
Prueba cometa [ANE]	34.3 (2.73)	24.0 (1.54)	0.001	Polonia	23
Prueba cometa [BNE]	29.5 (1.94)	24.0 (1.54)	0.1	Polonia	23
Prueba cometa	43.21 (8.0)	41.57 (9.02)	0.1793	Polonia	32
Prueba cometa	--	--	0.001	Brasil	33
AB	8.42 (0.93)	3.03 (0.93)	0.05	India	29
Prueba cometa	7.04 (2.35)	16.08 (2.78)	0.05	India	29
M-MN	1.03 (0.56)	0.4 (0.11)	0.05	India	29
Prueba cometa	0.34 (0.30)	0.31 (0.27)	0.72	Brasil	24
M-MN	0.38 (1.28)	0.17 (0.55)	0.034	Brasil	34

## RESULTADOS

Se colectaron 164 muestras de mucosa bucal, de ellas 43 fueron de personas sanas sin toxicomanías, 40 de pacientes con problemas oncológicos tratados con quimioterapia antineoplásica y 81 de personas ocupacionalmente expuestas a diferentes gases anestésicos (enflurano, isoflurano, sevoflurano, halotano). Los datos demográficos de este último grupo se muestran en la Tabla 2, se pudo observar que los lugares de residencia fueron de 22 entidades federativas de 32 que conforman México. La distribución de sexo fue del 72.8% (59/81) masculinos, la edad promedio fue de 42.8 ± 8.0 años, el promedio de hijos fue de 2.2 ± 1.5 (1.2 ± 1.1 varones y 1.0 ± 1.5 mujeres), y el tiempo de exposición a anestésicos fue de 12.1 ± 7.4 años y 4.8 ± 7.4 h/día. Con respecto al tabaquismo y consumo de alcohol fueron las únicas toxicomanías reconocidas por los participantes, si bien solo el 23% (19/81) eran fumadores (6.1 ± 3.3 cigarros/día), por su parte en cuanto al alcohol el 50.6% (41/81) lo consumían con regularidad, y el consumo del café se identificó en el 77.8% (63/81).

Al analizar la frecuencia de CMN y anomalías nucleares (Tabla 3), se encontró diferencia estadísticamente significativa en CMN (Grupo 2, frecuencia más baja), BN (Grupo 3, menor frecuencia) y en CR, PN y CL (en estos tres últimos, el más alto fue en el grupo 3).

En el Grupo 1, el 66% de los individuos presentan mayor frecuencia CMN que promedio del grupo 2, sin embargo en aquellos individuos cuya frecuencia está por debajo (27/81), muestran mayor frecuencia de al menos alguna anomalía

nuclear (19/27). En cuanto a la frecuencia de MN y anomalías nucleares no se encontraron diferencias significativas al analizar los años de exposición ( $p$ : 0.17), sin embargo al categorizar los grupos por horas de exposición se observó mayor frecuencia de 0 a 4 años que de 5 a 8 e incluso que de 9 horas o más ( $p$ : <0.001). Se observó menor frecuencia en aquellos que tenían el hábito del tabaco ( $p$ : 0.01) y alcohol ( $p$ : 0.01), y no se observaron diferencias en cuanto al consumo de café y vitamínicos. Además los anestesiólogos masculinos presentaron mayor frecuencia que las mujeres ( $p$ : <0.001).

## DISCUSIÓN

Históricamente son muchas las ocupaciones que implican exposiciones peligrosas, y en el ambiente hospitalario aún es más frecuente, sin embargo la exposición a gases anestésicos es controversial, y particularmente el efecto genotóxico, sumado que en México no existen estudios que evalúen esta situación. El presente trabajo, se realizó en células de mucosa bucal trabajadores de diferentes hospitales de México, de ahí que las condiciones de trabajos fueron muy diversas así como el tiempo de exposición.

Es de señalar que solo se localizaron dos trabajos en los que evalúen la genotoxicidad de los gases anestésicos en mucosa bucal,<sup>24,29</sup> el resto son en linfocitos de sangre periférica lo cual implica el cultivo del tejido, y que en este último caso de los siete trabajos localizados, en tres de ellos no encuentran genotoxicidad (Tabla 1).

En el caso de los dos estudios realizados en mucosa bucal, al

Tabla 2. Datos sociodemográficos de los anestesiólogos

ID	Edad	Sexo	Residencia	Hijos		Exposición Anestésicos		Hábitos tabaco	Alcohol	Cafe
	años			M	F	Años	Horas/días	cigarrillo/día		
1	46	M	Sinaloa	4	3	9	12	5	+	+
2	sin dato	M	Sinaloa	1	2	10	12	-	+	+
3	sin dato	M	Jalisco	3	3	14	2	-	-	-
4	51	F	Chihuahua	2	0	27	4	4	-	+
5	34	F	Estado de México	0	0	6	6	-	-	-
6	32	F	Jalisco	0	0	4	3	-	+	+
7	31	M	Guerrero	0	1	5	2	-	+	+
8	45	M	Chihuahua	4	1	15	9	-	+	+
9	46	M	Chihuahua	0	0	13	4	3	+	+
10	36	M	Morelos	3	0	6	3	-	-	+
11	32	F	Morelos	0	0	4	3	-	-	+
12	43	M	Sin dato	1	1	10	4	-	-	+
13	55	M	Baja California	2	1	25	10	-	-	+
14	32	M	Colima	0	2	12	3	10	-	+
15	33	F	Coahuila	1	1	5	3	-	+	+
16	57	-	Tampico	2	1	4	10	-	-	+
17	51	M	Oaxaca	0	1	24	12	-	-	-
18	44	M	Nuevo León	0	3	/	/	-	-	+
19	39	F	Nayarit	1	0	8	6	-	-	+
20	55	M	Sinaloa	3	0	10	3	-	-	+
21	30	F	Distrito Federal	1	0	3	12	-	-	+
22	28	F	Distrito Federal	0	0	3	8	-	+	+
23	56	M	Distrito Federal	1	2	30	6	-	+	+
24	34	M	Jalisco	3	0	6	5	5	+	+
25	46	M	Baja California	4	0	10	4	-	+	+
26	33	F	Distrito Federal	0	0	4	4	-	-	+
27	43	M	Jalisco	1	3	15	3	-	+	+
28	39	M	Tamaulipas	1	0	10	4	5	+	+
29	61	M	Michoacán	2	2	26	2	-	-	+
30	48	M	Distrito Federal	2	1	4	5	6	+	+
31	47	M	Chiapas	3	1	26	4	-	+	+
32	48	M	Puebla	0	3	6	8	5	+	+
33	32	M	Veracruz	1	0	5	1	5	-	-
34	59	F	Distrito Federal	1	2	11	8	-	-	-
35	31	M	Distrito Federal	0	0	6	3	-	-	-
36	39	M	Veracruz	0	1	10	3	-	+	+
37	39	M	Veracruz	2	1	10	3	-	+	-
38	41	M	Baja California	2	1	5	3	-	+	+
39	51	M	Estado de México	2	2	20	2	-	-	+
40	39	M	Morelos	2	1	10	1	-	-	+
41	43	M	Guanajuato	2	0	15	4	-	-	+

Continuación Tabla 2. Datos sociodemográficos de los anestesiólogos

ID	Edad	Sexo	Residencia	Hijos		Exposición Anestésicos		Hábitos tabaco	Alcohol	Cafe
	años			M	F	Años	Horas/días	cigarrillo/día		
42	42	F	Nayarit	1	1	15	2	-	-	+
43	43	M	Tamaulipas	0	2	10	3	-	-	+
44	45	M	Estado de México	0	1	15	4	-	+	+
45	49	M	Baja California	1	3	21	8	-	+	+
46	27	F	Distrito Federal	0	0	1.5	2	-	-	-
47	42	M	Jalisco	1	0	15	3	-	+	+
48	30	M	Coahuila	1	1	0.7	7	-	-	-
49	42	F	Campeche	0	0	6	16	-	-	+
50	37	F	Durango	1	1	10	4	3	-	+
51	48	M	Guanajuato	0	2	15	1	-	-	-
52	43	M	Tlaxcala	2	1	12	6	-	-	+
53	42	M	Michoacán	2	1	15	2	-	-	-
54	39	F	Veracruz	2	0	10	4	3	+	+
55	51	M	Chihuahua	1	3	20	4	-	+	-
56	42	M	Coahuila	0	0	8	4	-	-	+
57	35	F	Veracruz	0	0	7	4	-	-	+
58	41	F	Distrito Federal	0	1	12	8	-	-	+
59	48	M	Jalisco	2	1	20	5	-	-	+
60	48	M	Michoacán	3	1	14	2	-	+	+
61	47	M	Veracruz	0	3	15	2	-	+	+
62	43	M	Nayarit	1	1	15	6	-	+	-
63	41	M	Michoacán	1	2	0	3	-	+	-
64	48	M	Baja California	0	2	20	2	3	+	-
65	42	M	Michoacán	0	2	13	2	4	+	-
66	44	M	Jalisco	1	1	15	6	-	-	-
67	41	M	Jalisco	3	0	15	8	15	-	+
68	57	M	Jalisco	1	1	25	2	10	-	+
69	54	M	Sinaloa	2	1	15	1	-	+	+
70	36	F	Baja California	0	0	10	8	-	-	-
71	47	M	Baja California	2	2	19	6	-	+	+
72	36	M	Baja California	1	1	8	3	10	+	+
73	61	M	Jalisco	1	2	32	8	10	+	+
74	51	M	Coahuila	0	1	6	3	-	+	+
75	46	M	Tamaulipas	2	0	20	8	-	+	+
76	36	F	Baja California	0	0	9	6	-	+	+
77	49	M	Puebla	1	1	18	2	-	-	-
78	48	M	Guanajuato	2	1	10	5	6	+	+
79	44	F	Sinaloa	1	1	12	3	5	+	+
80	31	F	Baja California	2	1	7	9	-	+	+
81	42	M	Michoacán	3	0	15	2	-	+	+
Media	42.8	M-59		1.2	1.0	12.4	4.8			
		F-22								
D S	(8.0)			(1.1)	(0.9)	(6.9)	(3.1)			

igual que nosotros, encuentran daño genotóxico en el personal expuesto a gases anestésicos.<sup>24,29</sup> Sin embargo Souza *et al.*<sup>24</sup>, señalan similitud entre sexos, lo que contrasta con nuestro estudio, ya que en este estudio observamos mayor frecuencia en varones ( $p$ : <0.001), además señala mayor frecuencia de CR ( $p$ : <0.0001) y PN ( $p$ : <0.024), mientras que nosotros solo encontramos daño a la citocinesis marcado por el incremento de las CBN ( $p$ : <0.006). Estas discrepancias podrían deberse a la diferencias entre poblaciones estudiadas y el tamaño de estas (Souza: 30, en este trabajo: 81), o bien los procedimientos metodológicos seguidos por cada laboratorio y a que a un no existen una verdadera estandarización entre la identificación de las diferentes anomalías nucleares, cabe señalar que Souza *et al.*<sup>24</sup>, analizaron 1,000 células por participante y nosotros 2,000, lo cual disminuye el error.

Como se puede observar en el Tabla 3, las personas ocupacionalmente expuestas a gases anestésicos, presentan mayor frecuencia de CMN que las personas no expuestas, lo que refleja evidente daño al material genético. Así aportamos una evidencia más de que estos compuestos son potenciales cancerígenos, si bien es cierto que es necesario realizar más estudios, en los que se realice un seguimiento, y relacionarlo con las condiciones de quirófano y los sistemas de eliminación de gases, así como descartar el posible ambiente hospitalario.

**Tabla 3.** Micronúcleos y anomalías nucleares en Personas Ocupacionalmente Expuestas A Gases Anestésicos, de pacientes tratados con quimioterapia y de personas no expuestas

Daño	n	Expuestos		No expuestos	p
		Anestésicos	Quimioterapia	43	
		81	40	43	
DNA	CMN	2.8 (1.9)	3.3 (3.6)	0.7 (0.7)	< 0.001
	NL	1.0 (2.1)	0.8 (2.6)	0.6 (0.9)	= 0.600
Citocinesis	BN	1.6 (1.4)	0.9 (1.2)	1.8 (1.7)	= 0.006
Muerte celular	CR	0.1 (0.2)	0.9 (2.0)	0.1 (0.2)	< 0.001
	CC	0.5 (0.9)	0.4 (1.0)	1.0 (1.6)	= 0.100
	PN	0.1 (0.4)	1.5 (2.1)	0.3 (0.8)	< 0.001
	CL	0.5 (1.2)	7.5 (8.6)	0.2 (0.6)	<0.001

## CONCLUSIÓN

La prueba de micronúcleos en células de mucosa bucal es un buen biomarcador de genotoxicidad provocada por gases anestésicos, y este trabajo aporta evidencia de que el personal expuesto a estos, tiene alto riesgo de genotoxicidad; por ello se sugiere poner en marcha las medidas de seguridad existentes o implementar las que sean necesarias para minimizar el riesgo.

**Agradecimientos:** Reconocimiento a la Universidad Autónoma de Guadalajara y al Lic. Ricardo del Castillo Ruano, por todas las facilidades prestadas.

Todos los autores declaran que no existe ningún conflicto de intereses con respecto a la publicación de este artículo.

## REFERENCIAS

- Schmid W. The micronucleus test. *Mutat Res.* 1975; 31(1): 9-15.
- Heddle JA, Hite M, Kirkhart B, Mavournin K, MacGregor JT, Newell GW, et al. The induction of micronuclei as a measure of genotoxicity. A report of the U.S. Environmental Protection Agency Gene-Tox Program. *Mutat Res.* 1983; 123(1): 61-118.
- Zúñiga-González G, Torres-Bugarín O, Zamora-Pérez A, Gómez-Meda BC, Ramos Ibarra ML, Martínez-González S, et al. Differences in the number of micronucleated erythrocytes among young and adult animals including humans. Spontaneous micronuclei in 43 species. *Mutat Res.* 2001; 494(1-2): 161-167.
- Zúñiga-González G, Torres-Bugarín O, Luna-Aguirre J, González-Rodríguez A, Zamora-Pérez A, Gómez-Meda BC, et al. Spontaneous micronuclei in peripheral blood erythrocytes from 54 animal species (mammals, reptiles and birds): part two. *Mutat Res.* 2000; 467(1): 99-103.
- Gómez-Meda BC, Zamora-Pérez AL, Luna-Aguirre J, González-Rodríguez A, Ramos-Ibarra ML, Torres-Bugarín O, et al. Nuclear abnormalities in erythrocytes of parrots (*Aratinga canicularis*) related to genotoxic damage. *Avian Pathol.* 2006; 35(3): 206-210.
- Torres-Bugarín O, Zamora-Pérez A, AEsparza-Flores, López-Guido B, Feria-Velasco A, Cantú JM, et al. Eritrocitos micronucleados en niños esplenectomizados con y sin quimioterapia. *Bol Méd Hos Infan Méx.* 1999; 56(4): 212-217.
- Torres-Bugarín O, Ramos-Ibarra ML. Utilidad de la prueba de micronúcleos y anomalías nucleares en células exfoliadas de mucosa oral en la evaluación de daño genotóxico y citotóxico. *Int J Morphol.* 2013; 31(2): 650-657.
- Bonassi S, Coskun E, Ceppi M, Lando C, Bolognesi C, Burgaz S, et al. The HUMAN MicroNucleus project on exfoliated buccal cells (HUMN(XL)): the role of life-style, host factors, occupational exposures, health status, and assay protocol. *Mutat Res.* 2011; 728(3): 88-97.
- Torres-Bugarín O, de Anda-Casillas A, Ramírez-Muñoz MP, Sánchez-Corona J, Cantú JM, Zúñiga G. Determination of diesel genotoxicity in firebreathers by micronuclei and nuclear abnormalities in buccal mucosa. *Mutat Res.* 1998; 413(3): 277-281.
- Torres-Bugarín O, Macriz-Romero N, Ramos-Ibarra ML, Flores-García A, Valdez AP, Zavala-Cerna MG. Genotoxic effect in autoimmune diseases evaluated by the micronucleus test assay: our experience and literature review. *Biomed Res Int.* 2015; 2015: 194031.
- Torres-Bugarín O, Pacheco-Gutiérrez AG, Vázquez-Valls E, Ramos-Ibarra ML, Torres-Mendoza BM. Micronuclei and nuclear abnormalities in buccal mucosa cells in patients with anorexia and bulimia nervosa. *Mutagenesis.* 2014; 29(6): 427-431.
- Torres-Bugarín O, Ventura-Aguilar A, Zamora-Pérez A, Gómez-Meda BC, Ramos-Ibarra ML, Morgan-Villela G, et al. Evaluation of cisplatin + 5-FU, carboplatin + 5-FU, and ifosfamide + epirubicin regimens using the micronuclei test and nuclear abnormalities in the buccal mucosa. *Mutat Res.* 2003; 539(1-2): 177-186.

13. Torres-Bugarín O, Ramos-Ibarra ML. Micronúcleos y anomalías nucleares en mucosa bucal para evaluar población en riesgo laboral por mutágenos. *Rev Costarricense Salud Pública*. 2013; 22(1): 1-3
14. Jara-Ettinger AC, López-Tavera JC, Zavala-Cerna MG, Torres-Bugarín O. Genotoxic evaluation of Mexican welders occupationally exposed to welding-fumes using the micronucleus test on exfoliated oral mucosa cells: A cross-sectional, case-control study. *PLoS One*. 2015; 10(8): e0131548.
15. Torres-Bugarín O, Zavala-Cerna MG, Nava A, Flores-García A, Ramos-Ibarra ML. Potential uses, limitations, and basic procedures of micronuclei and nuclear abnormalities in buccal cells. *Dis Markers*. 2014; 2014: 956835.
16. Tolbert PE, Shy CM, Allen JW. Micronuclei and other nuclear anomalies in buccal smears: methods development. *Mutat Res*. 1992; 271(1): 69-77.
17. Speit G, Ladeira C, Linsenmeyer R, Schutz P, Hogel J. Re-evaluation of a reported increased micronucleus frequency in lymphocytes of workers occupationally exposed to formaldehyde. *Mutat Res*. 2012; 744(2): 161-166.
18. Terzic S, Milovanovic A, Dotlic J, Rakic B, Terzic M. New models for prediction of micronuclei formation in nuclear medicine department workers. *J Occup Med Toxicol*. 2015; 10: 25.
19. Kumar D, Kumari S, Salian SR, Uppangala S, Kalthur G, Challapalli S, *et al*. Genetic instability in lymphocytes is associated with blood plasma antioxidant levels in health care workers occupationally exposed to ionizing radiation. *Int J Toxicol*. 2016;35(3):327-335.
20. Moretti M, Grollino MG, Pavanello S, Bonfiglioli R, Villarini M, Appolloni M, *et al*. Micronuclei and chromosome aberrations in subjects occupationally exposed to antineoplastic drugs: a multicentric approach. *Int Arch Occup Environ Health*. 2015; 88(6): 683-695.
21. Schifilliti D, Mondello S, D'Arrigo MG, Chille G, Fodale V. Genotoxic effects of anesthetic agents: An update. *Expert Opin*. 2011; 10(6): 1-9.
22. IARC. Monographs on Evaluation of Carcinogenic risks to humans. Overall evaluations of carcinogenicity: An up dating of IARC Monographs International Agency for Research on Cancer. 1998; 1-42(7): 93-95.
23. Wrońska-Nofer T, Palus J, Krajewski W, Jajte J, Kucharska M, Stetkiewicz J, *et al*. Evaluation of genetic damage in operating room personnel exposed to anaesthetic gases. *Mutagenesis*. 2006; 21(4): 249-254.
24. Souza KM, Braz LG, Nogueira FR, Souza MB, Bincoletto LF, Aun AG, *et al*. Occupational exposure to anesthetics leads to genomic instability, cytotoxicity and proliferative changes. *Mutat Res*. 2016; 13(791-792): 42-48.
25. Bozkurt G, Memis D, Karabogaz G, Pamukcu Z, Ture M, Karamanlioglu B, *et al*. Genotoxicity of waste anaesthetic gases. *Anaesth Intensive Care*. 2002; 30(5): 597-602.
26. Wiesner G, Schiewe-Langgartner F, Lindner R, Gruber M. Increased formation of sister chromatid exchanges, but not of micronuclei, in anaesthetists exposed to low levels of sevoflurane. *Anaesthesia*. 2008; 63(8): 861-864.
27. Rozgaj R, Kasuba V, Jazbec A. Preliminary study of cytogenetic damage in personnel exposed to anesthetic gases. *Mutagenesis*. 2001; 16(2): 139-143.
28. Rozgaj R, Kasuba V. Chromosome aberrations and micronucleus frequency in anaesthesiology personnel. *Arh Hig Rada Toksikol*. 2000; 51(4): 361-368.
29. Chandrasekhar M, Rekhadevi PV, Sailaja N, Rahman MF, Reddy JP, Mahboob M, *et al*. Evaluation of genetic damage in operating room personnel exposed to anaesthetic gases. *Mutagenesis*. 2006; 21(4): 249-254
30. Wiesner G, Hoerauf K, Schroegendorfer K, Sobczynski P, Harth M, Ruediger HW. High-level, but not low-level, occupational exposure to inhaled anesthetics is associated with genotoxicity in the micronucleus assay. *Anesth Analg*. 2001; 92(1): 118-122.