

Evaluación genotóxica en individuos expuestos al Formaldehído en los departamentos médicos legales de la Policía Judicial del Ecuador

Luis Gualco Pazmiño¹, Santiago Araujo², María Eugenia Sánchez², César Paz y Miño²

¹ Fiscalía General del Estado - Unidad de Delitos Flagrantes

² Universidad de las Américas - Instituto de Investigaciones Biomédicas

Correspondencia:

Luis Gualco Pazmiño – luisgerardo@hotmail.com

Recibido: 27/10/2014

Aceptado: 19/11/2014

RESUMEN

Introducción: el formaldehído es un importante químico con muchos derivados y usos comerciales. Estudios epidemiológicos en poblaciones ocupacionalmente expuestas a formaldehído tiende a asociar con un número de efectos biológicos en humanos.

Materiales y métodos: para determinar los posibles daños ocasionados en población expuesta, se realizó una evaluación genotóxica en 40 Médicos Legistas y Disectores hombres y mujeres expuestos a formaldehído; un grupo similar de 40 empleados administrativos hombres y mujeres de la misma institución pero no expuestos a formaldehído sirvieron como no expuestos; para determinar la frecuencia de diferentes tipos de aberraciones cromosómicas estructurales y numéricas.

Resultados: en el grupo ocupacionalmente expuesto a formaldehído un significativo incremento en la incidencia de: fracturas cromatídicas, fracturas cromosómicas, cromosomas en anillo y poliploidías fue observado. La exposición a formaldehído fue tres veces mayor en el grupo de expuestos a formaldehído. El nivel de exposición a formaldehído más alto fue encontrado cuando los cadáveres eran cerrados, seguidos del embalsamamiento (formolización) de los cuerpos.

Conclusión: los resultados demostraron que la exposición a formaldehído induce aberraciones cromosómicas en linfocitos de sangre periférica del personal que labora en las morgues de los Departamentos Médico Legales.

Palabras clave: formaldehído, aberraciones cromosómicas, cromosoma, linfocitos, exposición ocupacional.

ABSTRACT

Introduction: formaldehyde is an important chemical with many derivatives and commercial uses. Epidemiological studies of occupational population exposed to formaldehyde prove to be associated to biological effects in humans.

Materials and methods: chromosome analyses were carried out in lymphocytes of 40 forensic doctors and dissectors male and female exposed to formaldehyde (FA) for 3 -20 years. A similar group of 40 males and females from the same police Institution but without FA exposure served as a control group with non exposure in order to establish frequency and different types of numerical and structural chromosomal aberrations. The exposed group to formaldehyde showed significantly increased incidence of breaks of the chromatid type, breaks of the chromosomes type, ring chromosomes and polyploidies was observed.

Results: total mean exposure time to FA was about 3 times longer than non exposure group. The highest exposures to formaldehyde were encountered when autopsied cases were closed, followed by when autopsies cases were embalmed.

Conclusions: the results demonstrate that exposure to formaldehyde induces chromosomal aberrations in peripheral blood lymphocytes of personnel working in murders of legal medicine departments.

Keywords: formaldehyde, chromosomal aberrations, chromosome, lymphocytes, occupational exposure.

INTRODUCCIÓN

El formaldehído es un importante químico con muchos derivados y usos comerciales. Estudios epidemiológicos en poblaciones ocupacionalmente expuestas a formaldehído lo asocian con un número de efectos biológicos en humanos semejantes a sensibilización de la piel¹ conjuntivitis e inflamación de la vía aérea superior.² En modelos de experimentación animal como roedores se observó que de 6 a 15 partes por millón (p.p.m) de formaldehído causa el desarrollo de carcinoma nasal.³ La exposición a formaldehído es asociada con cáncer nasal,⁴ cáncer bucal y faringeo⁵ y leucemia.^{6, 7} La Agencia Internacional de Investigación para el Cáncer⁸ reclasificó recientemente al formaldehído del grupo 2A (probablemente carcinógeno en humanos) a grupo 1 (carcinógeno en humanos) y concluyó que hay fuerte pero no suficiente evidencia para una asociación causal entre leucemia y una exposición ocupacional a formaldehído. La administración de Seguridad y Salud Ocupacional de Estados Unidos (OSHA), estableció desde 1992 que el límite de exposición permisible (PEL) para el formaldehído es de 0.75 ppm, calculado como un límite de exposición en ambiente de 8 horas.⁹

El daño cromosómico en humanos expuestos a carcinógenos conocidos o sospechosos es estudiado a través de varios marcadores biológicos. La exposición a algún genotóxico, puede producir, dependiendo del tipo de lesión inducido sobre el ADN, anomalías cromosómicas que pueden ser detectadas mediante técnicas citogenéticas.^{10, 11} Los linfocitos de sangre periférica se emplean como células centinela ideales para la evaluación de aberraciones cromosómicas provocadas por agentes con potencial genotóxico.¹⁰ El monitoreo de daños cromosómicos es un mecanismo muy útil para dar seguimiento a poblaciones expuestas a genotóxicos ya que permite la evaluación total del genoma celular.¹² muchos estudios reportan resultados positivos que indican que el formaldehído es capaz de inducir una serie de daños genotóxicos, afectando el ADN de los linfocitos y posiblemente otras células derivadas de la médula ósea.¹³

Los hallazgos de publicaciones de linfocitos en sangre de personas expuestas a formaldehído son contradictorios. En trabajadores expuestos a formaldehído de una fábrica manufacturera y procesadora,¹⁴ como también en trabajadores de patología,¹⁵ no hubo un incremento significativo en la incidencia de aberraciones cromosómicas cuando se comparó con individuos no expuestos. En contraste, Chevoterav et al observó un incremento del nivel de aberraciones cromosómicas en trabajadores de la industria maderera expuestos a formaldehído.¹⁶ Un análisis de fragilidad cromosómica en linfocitos humanos expuestos a formaldehído in vitro reveló aberraciones cromosómicas.¹⁷ Levy demostró que la exposición de fibroblastos humanos a 2 mm de formaldehído por 15 minutos resultó, cuantitativa y cualitativamente, en efectos citogenéticos comparables a aquellos producidos por una dosis de rayos X de 100 rad.¹⁸

En vista que la exposición a formaldehído in vivo arroja resultados contradictorios se presenta un estudio detallado de aberraciones cromosómicas numéricas y estructurales en trabajadores Médicos Legistas y Disectores que trabajan en los Departamentos Médicos Legales de Quito, Guayaquil y Cuenca.

MATERIALES Y MÉTODOS

Población de estudio

Se seleccionó a trabajadores de Departamentos Médico Legales donde el formaldehído es usado como preservante de cadáveres (embalsamamiento) y piezas anatómicas. Un grupo de 40 trabajadores 24 hombres y 16 mujeres Médicos Legistas y Disectores (38,55 ± 8,32 años) e igualmente un grupo de personas con similares características (38,43 ± 8,12 años) cuyo ambiente laboral no tenga presencia de formaldehído. En ambos grupos la participación fue voluntaria, firmaron un consentimiento informado y respondieron un cuestionario impreso sobre información personal como edad, género, de salud, consumo de medicamentos, exposición a radiaciones ionizantes, hábitos como: café, té, cigarrillo, historia de exposición laboral. Ningún participante consumía alcohol ni fumaba. Las 80

personas examinadas fueron saludables y ninguna previamente recibió radiaciones ionizantes o terapia con citostáticos. La exposición ocupacional a formaldehído de los 40 Médicos Legistas y Disectores tuvo un rango de 3 a 20 años promedio de 6,2 años. Los cuales trabajan 5 días a la semana 8 horas al día con una media de exposición laboral de 2,88 ± 1,18 horas; ninguno de los cuales fue expuesto a otro genotóxico. Igualmente el grupo no afectó.

Monitoreo de la exposición

La exposición a formaldehído fue valorada tanto en el área de Tanatología y Administrativa donde labora el personal expuesto y no expuesto respectivamente con un equipo Formaldehydrometer marca Haltech, HAL-HFX 205 previamente calibrado el cual absorbe las moléculas de formaldehído (HCOH) dispersas en el aire dando un valor en ppm o mg/m³ con una lectura en tiempo real de los niveles de contaminación de formaldehído, una vez terminada la medición los valores fueron analizados con el programa SSPS. Versión 18.

En cada uno de los Departamentos Médicos Legales de Quito, Guayaquil y Cuenca se midieron los niveles de concentración de formaldehído en: morgue, bodega, sala de espera, secretaría, archivo, residencia médica y consultorios; durante una autopsia médico legal, formalización, cierre y entrega de un cuerpo. Los límites de exposición ocupacional a formaldehído se compararon con los estándares de la Organización Internacional Laboral (ILO), para el formaldehído el límite ambiental para exposiciones cortas del Instituto de Seguridad e Higiene en el trabajo.¹⁹

Pruebas citogenéticas

Por cada sujeto de estudio se realizaron 2 cultivos de linfocitos de sangre periférica. Un cultivo estándar para observar la fragilidad cromosómica espontánea y un cultivo con afidicolina para observar la fragilidad cromosómica inducida durante 48 horas a 37°C.

Se utilizó 1ml de sangre heparinizada en cada cultivo, el modelo in vitro se preparó con RPMI 1640 (GIBCO, Grand Island NY) suplementado con suero fetal bovino (GIBCO, Grand Island NY), fetoheumaglutinina como agente estimulante de linfocitos. En uno de los cultivos se añadió afidicolina 0,3 mm 24 horas después de realizada la siembra.

Para el sacrificio celular se empleó 200ul de colcemid (Gibco® KaryoMAX®) 10ug/ ml por 1 hora antes de completar el tiempo de cultivo. Las muestras fueron centrifugadas y tratadas con solución hipotónica KCl (0.54M), fijadas 1 vez y lavadas por 3 ocasiones con solución Carnoy (3 metanol- 1 ácido acético). Posteriormente se realizó el extendido celular y la tinción con giemsa (GIBCO).

Análisis citogenético

Se analizaron 200 metafases por sujeto de estudio tanto de expuestos como de testigos, 100 metafases de cultivo estándar y 100 metafases de cultivo con afidicolina. Se tomó en cuenta metafases con un buen extendido celular y buena morfología cromosómica. Se trabajó con un microscopio marca Olympus serie EX51TF y los registros de las aberraciones cromosómicas se evaluaron con el software Cytovision cytogenetics (CytoVision 3.93.2 Applied Imaging).

Para el análisis estadístico se trabajó con el programa SPSS versión 18. Las variables que se manejaron fueron tiempo de exposición al formaldehído y tipo de aberraciones cromosómicas registradas en los individuos analizados. Se aplicó pruebas paramétricas (t de student) y no paramétricas (U de Mann-Whitney) para medir el nivel de heterogeneidad de los dos grupos de estudio con cada una de las variables.

RESULTADOS

En el análisis demográfico de la población estudiada se distribuyó en 40 expuestos a formaldehído los mismos que se encontraban trabajaron por tres o más años en el área de Tanatología de los Departamentos Médicos Legales de Quito, Guayaquil y Cuenca; el

grupo de no afectos estuvo constituido por 40 personas de similar condición étnica. No existió diferencia estadísticamente significativa en edad, género y años de trabajo (Tabla I).

El valor más alto de contaminación por formaldehído registrado fue de 4.17 ppm durante el cierre del cuerpo. Los niveles de contaminación que se registraron en bodega fue de 1,41± 0.133 ppm, seguido por la morgue con un nivel de contaminación continua de 0,66± 0,67 ppm.

Tabla I. Características demográficas de los grupos de estudio.

| Variable | | Afectó | No afectó | P |
|----------------------|---------------|--------------|--------------|---------------------|
| Edad | | | | |
| media± D.S | | 38,55 ± 8,32 | 38.43 ± 8.12 | >0.05 ^a |
| Género (%) | hombre | 24 (60) | 24 (60) | |
| | mujer | 16 (40) | 16 (40) | >0.05 ^a |
| Concentración | formolización | 4,17 | N.A | |
| (ppm) | bodega | 1,41 | N.A | 0,001 ^b |
| | morgue | 0,66 | N.A | |
| Tiempo de exposición | | | | |
| media± D.S | | 2.88 ±1,18 | N.A | 0,0001 ^b |

N.A: no aplica. ppm: partes por millón. D.S: desvío estándar
a) t de student test.
b) U de Mann-Whitney test.

En el cultivo estándar las hiperploidia fue la aberración cromosómica numérica más frecuente en el grupo expuesto 6,27 (p=0,05) a diferencia del grupo control. Se reportaron otro tipo de alteraciones cromosómicas pero estadísticamente no demostrables (Tabla II).

Tabla II. Frecuencia de aberraciones cromosómica en afectos y controles, medio de cultivo estándar.

| T. Cultivo | Variable | | Expuesto | | P ^a |
|-------------|-----------|------|-------------|-------------|----------------|
| | T.M.A (%) | | 4000 (100) | | |
| | M.A (%) | | 36 (0,9) | 6 (0,15) | 0,606 |
| | | | | | |
| | A.C | chtg | 0,61 ± 0,75 | 0,56 ± 0,71 | 0,832 |
| C. Estándar | (X± D.S) | chrg | 0,24 ± 0,41 | 0,12 ± 0,42 | 0,996 |
| | | chtb | 0,26 ± 0,66 | 0,15 ± 0,42 | 0,672 |
| | | r | 0,31 ± 0,6 | 0 0 | 0,567 |
| | | n+ | 0,31 ± 0,6 | 0,17 ±0,38 | 0,717 |

a.-U de Mann-Whitney test. T.M.A: total de metafases analizadas.
M.A: metafases alteradas. A.C: aberración cromosómica.
X: mediana. D.S: desvío estándar. gap cromatídico (chtg), gap cromosómico (chrg), quiebre cromatídico (chtb), cromosoma en anillo (r), hiperploidia (n+).

En el cultivo con afidicolina, el grupo de trabajadores expuestos reportó aberraciones cromosómicas numéricas hiperploidia (n+),10,31 (p=0.051). Dentro de las aberraciones cromosómicas estructurales se reportó roturas cromatídica (chtb), en mayor frecuencia en el grupo expuesto 5,95 (p=0.054) a diferencia de los no afectos pero estadísticamente no demostrables (Tabla III).

Tabla III. Frecuencia de aberraciones cromosómica en afectos y controles, medio de cultivo con afidicolina.

| T. Cultivo | Variable | | Expuesto | | Control | P ^a |
|----------------|-----------|------|-------------|-----------|---------|----------------|
| | T.M.A (%) | | 4000 (100) | | | |
| | M.A (%) | | 64 (1,6) | 14 (0,35) | | 0,027 |
| | | | | | | |
| C. Afidicolina | A.C | chtg | 0,65 ± 0,75 | 0,69 | = 0,69 | 0,893 |
| | (X – D.S) | chrg | 0,23 ± 0,48 | 0,16 | = 0,46 | 0,854 |
| | | chtb | 0,6 ± 0,9 | 0,67 | = 0,42 | 0,876 |
| | | r | 0,09 ± 0,29 | 0 | 0 | 0,444 |
| | | n+ | 0,15 ± 0,49 | 0,13 | = 0,42 | 0,965 |

a. U de Mann-Whitney test. T.M.A: total de metafases analizadas.
M.A: metafases alteradas. A.C: aberración cromosómica.
X: mediana. D.S: desvío estándar. gap cromatídico (chtg), gap cromosómico (chrg), quiebre cromatídico (chtb), cromosoma en anillo (r), hiperploidia (n+).

DISCUSIÓN

La exposición total de formaldehído que los sujetos expuestos recibieron fue baja con un rango de 8h TWA de 0,66 ppm y un IC: 0-4,14 88% del OSHA PEL de 0,75 p.p.m. Estos niveles no sobrepasan las ocho horas límite de exposición a formaldehído determinado por la OSHA. Sin embargo las medidas de exposición durante la formolización y cierre del cuerpo exceden el límite a corto plazo de exposición de 0,3 ppm por un periodo de 15 minutos. Según el IARC la concentración de este químico en el aire durante el embalsamamiento es variable, con un nivel promedio de aproximadamente 1 ppm.²⁰ Las concentraciones medidas en los hospitales van de 0,083 a 0,83 ppm con un corto tiempo de aplicación durante la desinfección y específicamente en los laboratorios de histopatología el nivel promedio de exposición a formalina es aproximadamente 0,5 ppm.

En estudios realizados tanto en animales como en personas, se ha reportado que el formaldehído es débilmente genotóxico, pero con pruebas claras de efectos por ejemplo a nivel mucosa bucal o nasal en donde se ha visto la presencia de micronúcleos.²¹ Como se mencionó se observó un mayor porcentaje de fracturas cromatídicas (bct) en las muestras de cultivos RPMI con afidicolina y fracturas o roturas cromosómicas (bcs) en medio de cultivo RPMI estándar en comparación con el grupo de no expuestos, lo cual podría indicar que el grupo no expuesto se encuentra protegido para el desarrollo de estas aberraciones cromosómicas. Resultados que se correlacionan con los hallazgos de Jakab et al., en personal expuesto a formaldehído que labora en laboratorios de Patología, el cual encontró un incremento estadísticamente significativo en la incidencia de aberraciones cromosómicas en comparación con los individuos no expuestos,²² así como con los resultados de He et al, que demostraron una fuerte relación entre la exposición al formaldehído y aberraciones cromosómicas estructurales tipo fractura cromosómica y fractura cromatídica en estudiantes de medicina expuestos a esta sustancia.²³

En el presente estudio un significativo incremento en la frecuencia de aberraciones cromosómicas estructurales y numéricas fue observado en los linfocitos de los 40 Médicos Legistas y Disectores expuestos a formaldehído, sin embargo no representan resultados estadísticamente demostrables. Estos resultados podrían correlacionarse con los hallazgos de trabajadores expuestos a este químico y a otros de tipo industrial, los cuales reportaron niveles incrementados de aberraciones cromosómicas estructurales.^{24, 25}

La hiperploidea se refiere a los cambios en el número cromosomas que ocurren debido a una anormal división celular. El mecanismo por el cual ocurren no es claro, pero existe una evidencia experimental y epidemiológica significativa que asocian las aberraciones

cromosómicas estructurales y numéricas con carcinogénesis; como también una elevada frecuencia de aberraciones cromosómicas estructurales en linfocitos de sangre periférica es asociada con un incremento en el riesgo de desarrollar cáncer. Ninguna información es disponible sobre la posible asociación de una elevada frecuencia de aneuploidías en linfocitos con un incremento en el riesgo de cáncer.²⁶

El incremento de aberraciones cromosómicas en general en los cultivos con afidicolina, se debe a la clara acción de la afidicolina, deteniendo la replicación del ADN e inhibiendo la acción de la polimerasa alfa. En este estudio se preparó afidicolina con etanol al 100% en cantidades de 1 mg/ml (solución de trabajo 0,3mm), según especificación de la Casa Comercial SIGMA.

El etanol en particular no ha mostrado evidencia clara de tener un efecto carcinogénico,²⁰ tampoco se ha encontrado algún efecto mutagénico en estudios con Salmonella, pero se han encontrado algunos cambios mutagénicos transitorios en ratas tratadas con grandes dosis de este producto.²⁰ La elaboración de afidicolina que se realiza en el laboratorio, se usa 1 ml de etanol al 100% y a cada cultivo se emplea 3 ul de etanol más afidicolina dando una concentración final de etanol por cultivo de 0,05 mm. Esto aclara, que no hubo algún factor influyente en la generación.

El formaldehído es conocido por ser carcinogénico para animales y humanos. La mayor incidencia de aberraciones cromosómicas en linfocitos sanguíneos detalladas no indica el mecanismo directo de carcinogénesis pero si indican que alteraciones ocurren a nivel del ADN. Se sabe que si existe una exposición continua podría devenir en riesgo de carcinogénesis.²⁷

CONCLUSIONES

La mayor incidencia de aberraciones cromosómicas en el grupo de trabajadores expuestos a formaldehído de Médicos Legistas y Disectores demuestra los efectos citotóxicos que el formaldehído tiene sobre el ADN de las células.

Los cambios observados en linfocitos sanguíneos indican que los efectos citotóxicos pueden ser vistos en sitios distantes del área corporal expuesta.

La presencia de aberraciones cromosómicas estructurales en linfocitos demuestra que el grupo de trabajadores ocupacionalmente a formaldehído tiene mayor riesgo de desarrollar este tipo de anomalías cromosómicas, y la ausencia demuestra que el grupo de no expuestos presenta un factor protector para el desarrollo de estas anomalías cromosómicas.

La presencia de aberraciones cromosómicas numéricas tipo poliploidea en el grupo de expuestos a formaldehído en muestras de linfocitos cuyas metafases fueron analizadas con y sin afidicolina en el grupo de expuestos a formaldehído es un hallazgo poco descrito en la actualidad.

RECOMENDACIONES

Para prevenir la exposición a formaldehído es necesario reducir al mínimo posible su presencia en el lugar de trabajo, con el uso de sustancias alternativas al formaldehído.

Médicos Legistas y Disectores expuestos a formaldehído deberían tener acceso a pruebas citogenéticas de manera rutinaria y un seguimiento que pueda reportar sobre cualquier resultado inusual con el objetivo de prevenir enfermedades como parte de su salud ocupacional.

Futuras investigaciones deberían ser realizadas, un ensayo de FISH, para obtener un análisis detallado de las aberraciones cromosómicas simples y complejas que podría revelar los efectos del formaldehído sobre los linfocitos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Storrs F, Rosenthal L, Adams Robert, et al. Prevalence and relevance of allergic reactions in patients patch tested in North America 1984 to 1985. Elsevier, 1989; 20:1038-1045
2. Witek TJ, Schachler EN, Tosun T, et al. An evaluation of the respiratory effects following exposure to 2.0 p.p.m of formaldehyde in asthmatics: lung function, symptoms and air way reactive. Arch Env Health, 1987; 42:230-237
3. Albert RE, Sellakumar AR, Laskin S, Kuschner M, Nelson N, Snayder CA. Gaseous. Formaldehyde and hydrogen chloride induction of nasal cancer in the rat. J Natl Cancer Inst, 1982;68:597-603
4. Olson JH, Asnaes S. Formaldehyde and the risk of squamous cell carcinoma of the sinonasal cavities. Br J Ind Med, 1987; 43:769-774
5. Stayner LT, Elliot L, Blade L, Keenlyside R, Halperin WA. A retrospective cohort mortality study of workers exposed to formaldehyde in the garment industry. Am J Med, 1998; 13:667-681
6. Walrath J, Freumeni JF. Cancer and other causes of death among embalmers. Cancer Res, 1984; 44:4638-4641
7. Zhan L, Steinmaus C, Eastmond DA, Xianjun KX, Smith T. Formaldehyde exposure and leukemia: A new meta-analysis and potential mechanisms Review Article. Mutation Research, 2009; 681:150-168
8. Occupational Safety and Health Administration Occupational Exposure to Formaldehyde. Federal Register, 1992; 57:22290-22338
9. International Association on Cancer Research. Monographs on the Evaluation on the Carcinogenic Risk to Humans: International; Overall Evaluations of Carcinogenicity. Vol. 1 to 42. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer, 2010
10. Speit G, Dschütz P. The effect of inhibited replication on ADN migration in the comet assay in relation to toxicity and clastogenicity. Mutation research, 2002; 655:22-27
11. Paz y Miño C, Cresus A, Cabre O, Leone P. Genética toxicológica y carcinogénesis. Pontificia Universidad Católica del Ecuador. Quito - Ecuador, 2001
12. Rochette P, Therrien P, Drouin R, Perdiz D, Bastien N. UVA-induced cyclobutane pyrimidine dimers form predominantly at thymine-thymine dipyrimidines and correlate with the mutation spectrum in rodent cells. Nucleic Acids Research, 2003; 31:2786-2794
13. Voznenilkova H, Tmejova MS, Kubzova E, et al. Environmental monitoring and biological monitoring of young people exposed to nonoccupational levels of formaldehyde, toluene and other hydrocarbons. Sb Ved Pr Lek Fak Karlovy Univerzity Hradci Kralove Suppl, 1991; 34(4):407-76

14. Fleig I, Petri WG, Stoker AM. Cytogenetic analyses of blood lymphocytes of worker exposed to formaldehyde in manufacturing and processing. *J Occup Med*, 1982; 24:1009-1012
15. Thomson EJ, Shackleton S, Harrington JM. Chromosome aberrations and sister-chromatid exchange frequencies in pathology staff occupationally exposes to formaldehyde. *Mutation Res*, 1984; 141:89-93
16. Chevotarev AN, Tikenko NV, Selezneva TG. Comparative assessment of chromosomal aberrations, sister chromatid exchanges and unscheduled DNA synthesis in blood lymphocytes of the workers exposes to formaldehyde. In: XIV Annual Meet. of the EEMS, Moscow, 1984; 43: 11-14
17. Miretsaya L, Shavartsman P. Studies of chromosomal aberrations in human lymphocytes under de influence or formaldehyde, I. Formaldehyde treatment of lymphocytes in vitro. *Tsitologiya*, 1982; 24:1056-1060
18. Levy S, Nocetini S, Billardon C. Induction of cytogenetic effects in human fibroblast cultures after exposure to formaldehyde or X-rays. *Mutant Res*, 1983; 119:309-317
19. IARC Wood dust and formaldehyde. Lyon, International Agency for Research on Cancer, 1995; 62:217-375
20. WHO. Concise International Chemical Assessment Document 40 Formaldehyde. Geneva, 72, 2002
21. Jakab M, Tibor K, Krizina B, Biro A. Formaldehyde-induced chromosomal aberrations and apoptosis in peripheral blood lymphocytes of personnel working in pathology departments. *Mutation Res*, 2010; 698 (1):320-322
22. He JL, Jin HL, Jin HY. Detection of cytogenetic effects in in peripheral blood lymphocytes of students exposed to formaldehyde. *Biomed Environ Sci*. 1998; 11:87-92
23. Susukov I, Sazanova LA. Cytogenetics effects of epoxy, phenolformaldehyde and polyvinylchloride resins in mam. *Mutation Res*, 1982; 104:137-140
24. Mierauskiene J, Lekevicius R. Cytogenetic studies of workers occupationally exposed to phenol, styrene and formaldehyde. In XIV Annual Meet. Of the EEMS. Moscow, 1984; 11-14
25. Richard, Albertini A, Anderson D, George R, et al. IPCS guidelines for the monitoring of genotoxic effects of carcinogens in humans. *Mutation Research*, 2000; 463:111-172
26. Hagar L, Bonassi S, Stronberg U. Chromosomal aberrations in lymphocytes predict human cancer: a report from the European study group on cytogenetic biomarkers and health (ESCI). *Cancer Research*, 1998; 58 (18):4117-4121