

## Efeitos do Halotano e Enflurano na Sobrevida de Animais Inoculados com Tumor Experimental

E. Cremonesi, TSA<sup>1</sup>, S. B. Zingier<sup>2</sup> & I. J. Rodrigues<sup>3</sup>

Cremonesi E, Zingier S B, Rodrigues I J — Effect of halothane and enflurane influencing the survival of animals inoculated with experimental tumour

Effect of pre-treatment with halothane and enflurane on survival of mice bearing ascitic Ehrlich's tumor.

Two hundred and ninety-six mice were divided in four groups: groups Ia and IIa received respectively sub-anesthetic doses of halothane and enflurane for five days. Groups Ib and IIb were control groups. On the 5<sup>th</sup> day of the experiment all animals were inoculated ip with  $5 \times 10^5$  cells of Ehrlich's tumor. Survival tables were performed. Proportions of dead animals were submitted to statistical analyses by Kolmogorov Smirnov test for 2 independent samples. Group Ia, pre-treated with halothane, exhibited a significant decrease in survival time when compared to its control group Ib. There was not a significant survival time difference between group IIa (enflurane) and IIb (Control).

One explanation for these results could be a decrease in immunological defense caused by chronic inhalation of halothane allowing a faster proliferation of neoplastic cells.

Key - Words: ANESTHESIA: general; ANESTHETICS: inhalation, volatile, enflurane, halothane; ANIMAL: mouse; IMMUNOLOGIC RESPONSES; POTENCY: subanesthetic concentration.

O efeito da anestesia sobre as respostas imunológicas ainda não está esclarecido. Esse fato se agrava pela dificuldade em se separar os efeitos do estresse e da agressão cirúrgica, daqueles decorrentes da anestesia propriamente dita<sup>1</sup>. De um lado a anestesia protege o organismo contra a agressão cirúrgica e de outro pode induzir um efeito imunossupressor. Esse tema vem sendo estudado sob vários aspectos "in vivo" e "in vitro". Esses estudos mostram que os anestésicos podem atuar de várias maneiras sobre a resposta imunológica<sup>2-7</sup>. É de particular importância o

fato da anestesia responder imunologicamente por mediação de células contra antígenos tumorais<sup>7, 8</sup>. Ao lado disso devemos colocar o perigo da imunossupressão induzida no anestesiológico e no pessoal que trabalha em ambiente cirúrgico, que apresentam assim maior susceptibilidade a tumores malignos<sup>9, 10</sup>.

Em animais de laboratório foi demonstrada a maior facilidade para implante de células tumorais quando eles são expostos à anestesia<sup>11, 12</sup>.

Nós nos propomos a estudar o tempo de sobrevida de camundongos inoculados com tumor de Ehrlich e submetidos previamente à exposição crônica de halotano e enflurano.

Trabalho realizado na Disciplina de Terapêutica Clínica do Departamento de Clínica da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

1 Professor Livre-Docente

2 Professor Livre-Docente ICB-USP

3 Preparador

Correspondência para Eugesse Cremonesi  
Faculdade de Medicina da USP — Terapêutica  
Av. Dr. Arnaldo, 455 — Cerqueira Cesar  
01246 - São Paulo, SP

Recebido em 11 de setembro de 1984

Aceito para publicação em 04 de abril de 1985

© 1985, Sociedade Brasileira de Anestesiologia

### MATERIAL E MÉTODOS

Um total de 296 camundongos suíços machos de 6 semanas de idade e da mesma linhagem, com peso entre 25 e 30 g foram divididos em dois grupos. Cada grupo foi subdividido em dois subgrupos a e b. Os animais dos subgrupos Ia e IIa foram submetidos durante cinco dias sucessivos à inalação de 60 minutos de halotano a 1% (subgrupo Ia) ou enflurano a 1% (subgrupo IIa).

Os anestésicos foram administrados através de vaporizadores calibrados (Halotec mod. 27 e Vaporane mod. 1), com fluxo diluente de 4 litros de oxigênio. Os animais foram colocados em grupos de 10 em uma campânula de 15 litros de capacidade com entrada superior para a mistura anestésica e inferior para a eliminação dos gases. No interior da campânula foi colocada cal sodada para absorção de CO<sub>2</sub>. O orifício de saída foi submerso em 1 ml de água para evitar a entrada de ar na campânula (Figura 1). A temperatura da campânula foi mantida constante em torno de 22° C. A concentração anestésica no interior da câmara não foi medida, porém foi considerada subanestésica, de vez que os animais, observados durante toda a experiência, apresentavam-se com atividade espontânea reduzida porém não ausente e reagiam à estimulação acústica e mecânica (pancada na parede da campânula e movimentação brusca da mesma).

Os animais dos subgrupos Ib e IIb foram submetidos às mesmas condições de experimentação, exceto pela inalação dos anestésicos e serviram de controle para seu respectivo grupo.

No 5º dia de exposição, após sua retirada da campânula, os animais de todos os grupos foram inoculados por via intraperitoneal com 0,1 ml de uma solução de tumor de Ehrlich de  $5 \times 10^5$  células ml<sup>-1</sup>. Essas células eram obtidas de tumor ascítico mantido em nosso Laboratório.

O parâmetro estudado foi o tempo de sobrevivência dos animais. Tábuas de sobrevivência foram elaboradas segundo indicações de Bradford Hill<sup>13</sup>. A comparação entre as proporções de mortos em ambos os grupos foi feita pelo teste de Kolmogorov Smirnov para duas amostras<sup>14</sup>. O nível de significância foi de  $p > 0,05$  em prova bicaudal.

## RESULTADOS

Os resultados são apresentados nas Tabelas I e II.

A sobrevivência nos animais do grupo Ia, pré-tratados com halotano, foi significativamente menor do que a do seu grupo controle. Observa-se na Tabela I que até os 16º e 17º dias após a inoculação essa possibilidade de sobreviver é maior no grupo controle.

No grupo tratado com enflurano a tábua de sobrevivência não foi estatisticamente diferente de seu respectivo grupo controle.

## DISCUSSÃO

A observação da redução da sobrevivência de animais com tumores experimentais pela inalação de anestésicos foi objeto de estudo por vários

autores<sup>11, 12, 15</sup>. Eles observaram que a eficiência do implante de células tumorais é aumentada significativamente por anestésicos e manipulação cirúrgica. Entretanto, estudos sobre culturas de células "in vitro" sugerem que os anestésicos possuem efeito antimitótico de igual intensidade em células tumorais e normais<sup>16</sup>. Talvez esse contra-senso seja devido a uma ação mais rápida do anestésico sobre os leucócitos do hospedeiro, mais susceptíveis, propiciando um aumento do crescimento tumoral em condições de diminuição de imunidade. Outros autores verificaram que a anestesia reduz a capacidade do doente responder imunologicamente, por reação do tipo celular, contra antígenos tumorais<sup>11, 12</sup>. Pesquisas sobre a ação de anestésicos no desenvolvimento de tumores experimentais são contraditórias. Foi observado que a anestesia pode acelerar, reduzir ou não modificar o aparecimento ou disseminação de metástases<sup>10, 15, 17-21</sup>.

Entretanto não encontramos na literatura à nossa disposição, trabalhos que estudem o efeito de anestésicos, em concentrações subclínicas e exposição crônica, sobre a sobrevivência de animais com células tumorais inoculadas, que foi o objetivo do nosso trabalho. Uma deficiência na metodologia foi a impossibilidade de estabelecermos a concentração anestésica dentro da câmara de inalação. Contudo, a concentração era subanestésica, uma vez que os animais apresentavam-se apenas sedados, com movimentação diminuída e reagindo a estímulos sonoros e mecânicos. Dessa maneira nosso trabalho é um ponto de partida para outros estudos, nos quais possam ser administradas concentrações conhecidas de anestésicos e sob condições padronizadas para estudos de carcinogênese em animais, de acordo com as normas internacionais<sup>22</sup>.

A semelhança estrutural dos anestésicos inalatórios com agentes reconhecidamente carcinogênicos sugere que eles possam induzir ou facilitar a disseminação de um tumor maligno. Entretanto, é sabido que a carcinogênese requer uma exposição prolongada a um agente. Em animais, existe um período de latência de horas ou dias, seguido de outro no qual o processo se torna irreversível, após o qual as células vão se tornando cada vez mais anômalas e as sucessivas populações celulares tornam-se eventualmente malignas. Esse período de latência pode ser encurtado por uma série de estímulos hormonais, físicos e químicos<sup>23</sup>. Várias pesquisas mostram que a anestesia pode exercer influência no aparecimento ou agravamento de tumores experimentais<sup>18, 19, 22-27</sup>. Entretanto elas não são conclusivas, apesar de que alguns compostos como o clorofórmio e o tricloroetileno mostram propriedades carcinogênicas bem de-

EFEITOS DO HALOTANO E ENFLURANO

Tabela I — Tábuas de sobrevivência de camundongos portadores da forma sólida de tumor de Ehrlich. O grupo "tratado" recebeu inalações de halotano durante 5 dias antes da inoculação das células tumorais.

Período (dias)	CONTROLE					TRATADO COM HALOTANO					TESTE DE KOLMOGOROV-SMIRNOV
	Nº animais	Óbitos	Probabilidade de morte no período	Probabilidade sobrevida no período	Probabilidade sobrevida até o período	Nº animais	Óbitos	Probabilidade de morte no período	Probabilidade sobrevida no período	Probabilidade sobrevida até o período	
01	58	0	0	1	1	58	0	0	1	1	
02	58	0	0	1	1	58	0	0	1	1	
03	58	0	0	1	1	58	1	0,017	0,982	1	
04	58	0	0	1	1	57	0	0	1	0,982	
05	58	0	0	1	1	57	0	0	1	0,982	
06	58	0	0	1	1	57	0	0	1	0,982	
07	58	0	0	1	1	57	0	0	1	0,982	
08	58	0	0	1	1	57	1	0,017	0,982	0,982	
09	58	0	0	1	1	56	1	0,017	0,982	0,985	
10	58	0	0	1	1	55	1	0,018	0,981	0,948	
11	58	0	0	1	1	54	1	0,018	0,981	0,931	
12	58	0	0	1	1	53	2	0,037	0,962	0,913	
13	58	2	0,034	0,965	1	51	2	0,039	0,960	0,879	
14	56	5	0,089	0,910	0,965	49	10	0,204	0,795	0,844	
15	51	3	0,058	0,941	0,879	39	4	0,102	0,897	0,672	
16	48	3	0,062	0,937	0,827	35	6	0,171	0,828	0,603	D = 0,275 p > 0,05
17	45	5	0,111	0,888	0,775	29	4	0,137	0,862	0,499	
18	40	9	0,225	0,775	0,689	25	2	0,080	0,920	0,431	
19	31	8	0,258	0,741	0,534	23	2	0,086	0,913	0,396	
20	23	2	0,086	0,913	0,396	21	1	0,047	0,952	0,362	
21	21	3	0,142	0,857	0,362	20	3	0,150	0,850	0,344	
22	18	3	0,166	0,833	0,310	17	1	0,058	0,941	0,293	
23	15	1	0,066	0,933	0,258	16	1	0,062	0,937	0,275	
24	14	5	0,357	0,642	0,241	15	5	0,333	0,666	0,258	
25	9	3	0,333	0,666	0,155	10	3	0,300	0,700	0,172	
26	6	0	0	1	0,103	7	1	0,142	0,857	0,120	
27	6	3	0,500	0,500	0,103	6	2	0,333	0,666	0,103	
28	3	2	0,666	0,333	0,051	4	0	0	1	0,068	
29	1	0	0	1	0,017	4	2	0,500	0,500	0,068	
30	1	0	0	1	0,017	2	1	0,500	0,500	0,034	
31	1	1	1	0	0,017	1	1	1	0	0,017	
32	0					0					

Tabela II — Tábuas de sobrevivência de camundongos portadores da forma sólida de tumor de Ehrlich. O grupo "tratado" recebeu inalações de enflurano durante 5 dias antes da inoculação das células tumorais.

Período (dias)	CONTROLE					TRATADO COM ENFLURANO					TESTE DE KOLMOGOROV-SMIRNOV
	N.º animais	Óbitos	Probabilidade de morte no período	Probabilidade sobrevida no período	Probabilidade sobrevida até o período	N.º animais	Óbitos	Probabilidade de morte no período	Probabilidade sobrevida no período	Probabilidade sobrevida até o período	
10	90	2	0,022	0,977	1	90	0	0	1	1	
11	88	0	0	1	0,977	90	2	0,022	0,977	1	
12	88	0	0	1	0,977	88	0	0	1	0,977	
13	88	1	0,011	0,988	0,977	88	5	0,056	0,943	0,977	
14	87	2	0,022	0,977	0,966	83	2	0,024	0,975	0,922	
15	85	0	0	1	0,944	81	0	0	1	0,900	
16	85	0	0	1	0,944	81	0	0	1	0,900	
17	85	3	0,035	0,964	0,944	81	1	0,012	0,987	0,900	
18	82	2	0,024	0,975	0,911	80	2	0,025	0,975	0,888	
19	80	1	0,012	0,987	0,888	78	4	0,051	0,948	0,866	
20	79	7	0,088	0,911	0,877	74	8	0,108	0,891	0,822	
21	72	1	0,013	0,986	0,800	66	4	0,060	0,939	0,733	
22	71	2	0,028	0,971	0,788	62	5	0,080	0,919	0,688	D = 0,133 n.s.*
23	69	6	0,086	0,913	0,766	57	5	0,087	0,912	0,633	
24	63	2	0,031	0,968	0,700	52	1	0,019	0,980	0,577	
25	61	18	0,295	0,704	0,677	51	11	0,215	0,784	0,566	
26	43	2	0,046	0,953	0,477	40	3	0,075	0,925	0,444	
27	41	5	0,121	0,878	0,455	37	9	0,243	0,756	0,411	
28	36	6	0,166	0,833	0,400	28	3	0,107	0,892	0,311	
29	30	7	0,233	0,766	0,333	25	7	0,280	0,720	0,277	
30	23	6	0,260	0,739	0,255	18	3	0,168	0,833	0,200	
31	17	5	0,294	0,705	0,188	15	4	0,266	0,733	0,166	
32	12	1	0,083	0,916	0,133	11	1	0,090	0,909	0,122	
33	11	7	0,636	0,363	0,122	10	6	0,600	0,400	0,111	
34	4	0	0	1	0,044	4	2	0,500	0,500	0,044	
35	4	1	0,250	0,750	0,044	2	0	0	1	0,022	
36	3	1	0,333	0,666	0,033	2	1	0,500	0,500	0,022	
37	2					1	0	0	1	0,011	
38						1					

\* n.s. = não significativo ( $p > 0,05$ )

finalizadas de acordo com as normas internacionais sobre estudos de carcinogênese<sup>22, 25, 26</sup>

Em clínica, estudos epidemiológicos retrospectivos e prospectivos mostram uma incidência maior de tumores malignos em mulheres anestesistas e enfermeiras expostas cronicamente a anestésicos<sup>30, 31, 32</sup>. Entretanto outros autores acreditam que o assunto ainda é controverso, não conclusivo, exigindo observações mais extensas, profundas e mais bem planejadas<sup>32, 36</sup>. O mesmo pode ser dito quanto ao desencadeamento ou agravamento de um tumor maligno preexistente em pacientes submetidos à anestesia<sup>33, 34, 36</sup>.

Os mecanismos pelos quais uma anestesia poderia induzir ou agravar o desenvolvimento de um tumor em um indivíduo e aumentar a susceptibilidade do anestesiológico ao câncer são variados:

- Inibição do crescimento celular e da divisão celular, principalmente de medula óssea<sup>5, 6, 16</sup>.

- Interferência com a síntese de DNA e modificação do padrão normal de crescimento celular<sup>10, 15, 19, 20, 35</sup>.
- Formação de leucotrienes e outros radicais livres, por produtos do metabolismo dos anestésicos, potencialmente cancerígenos<sup>5, 23, 25, 27, 30, 31, 36</sup>.
- Redução da resposta imunológica celular ou humoral por: redução da fagocitose<sup>8</sup>, da migração de leucócitos<sup>5</sup>, alteração da função dos linfócitos T ativos e da resposta às fitohemoaglutininas<sup>1</sup>.
- Ação de fatores diversos associados, como mau estado geral, estresse, cirurgia, alimentação, drogas<sup>4</sup>.

Todos os mecanismos vêm sendo estudados, porém os resultados são difíceis de serem interpretados e comparados, devido à metodologia muito diversificada. Contudo merecem atenção maior por parte do anestesiológico que atua na área de pesquisa laboratorial.

Cremonesi E, Zingier S B, Rodrigues I J — Efeitos do halotano e enflurano na sobrevivência de animais inoculados com tumor experimental.

O efeito da anestesia sobre a resposta imunológica ainda não está esclarecido. Entretanto inúmeras pesquisas mostram que os anestésicos possuem, em grau maior ou menor, um efeito imunossupressor que poderia comprometer a resposta imunológica contra antígenos tumorais de pacientes e pessoal exposto a anestésicos. O trabalho visa estudar o efeito da inalação crônica com halotano e enflurano em doses subclínicas, sobre a sobrevivência de camundongos implantados com tumor de Ehrlich.

Os animais (296) foram subdivididos em 4 subgrupos: subgrupos Ia e IIa, submetidos à inalação crônica de halotano ou enflurano e subgrupos Ib e IIb controles. Nos quatro subgrupos, no 5º dia de inalação dos anestésicos nos grupos tratados, foram implantados  $5 \times 10^5$  células de uma solução de tumor de Ehrlich por via peritoneal. Os animais foram observados quanto à sua sobrevivência, pela elaboração de tábuas de sobrevivência. Os resultados analisados estatisticamente por método não paramétrico de Kolmogorov Smirnov para duas amostras mostraram que a inalação crônica de halotano em concentrações subanestésicas reduz significativamente o tempo de sobrevivência dos

Cremonesi E, Zingier S B, Rodrigues I J — Efectos del halotano y del enflurano en la sobrevivencia de animales inoculados con tumor experimental.

Los efectos de la anestesia sobre las respuestas inmunológicas aun no está esclarecido. No entanto, inúmeras pesquisas muestran que los anestésicos poseen, en mayor o menor grado, un efecto inmunosupresor que podría comprometer la respuesta inmunológica contra antígenos tumorales de pacientes y personal expuesto a anestésicos. El trabajo visa estudiar el efecto de la inhalación crónica con halotano y enflurano en dosis subclínicas, sobre la sobrevivencia de ratones implantados con tumor de Ehrlich.

Los animales (296) fueron subdivididos en 4 subgrupos: subgrupos Ia e IIa, sometidos a la inhalación crónica de halotano o enflurano y subgrupos Ib y IIb controles. En los cuatro subgrupos, en el 5º día de inhalación de los anestésicos en los grupos tratados, fueron implantados  $5 \times 10^5$  células de una solución de tumor de Ehrlich por vía peritoneal. Los animales fueron observados cuanto a su sobrevivencia, por la elaboración de tablas de sobrevivencia. Los resultados analisados estadísticamente por el método no paramétrico de Kolmogorov Smirnov para dos muestras mostraron que la inhalación crónica de halotano en concentraciones subanestésicas reduce significati-

camundongos, o que não ocorre com o enflurano. A explicação para esses achados talvez seja a redução das respostas imunológicas celulares ou humorais, mais acentuadas com o halotano em relação ao enflurano facilitando a proliferação de células neoplásicas.

vamente el tiempo de sobrevida de los ratones, lo que no ocurre con el enflurano.

La explicación para estos resultados esté tal vez en la reducción de las respuestas inmunológicas celulares o humorales, más acentuadas con halotano en relación al enflurano facilitando la proliferación de células neoplásicas.

Unitermos: ANESTESIA: geral; ANESTÉSICOS: inalatório, volátil, enflurano, halotano; ANIMAL: camundongo; POTÊNCIA, ANESTÉSICA: concentração subanestésica; RESPOSTAS IMUNOLÓGICAS

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Salo M — Effect of anesthesia and surgery on cell mediated immunity. *Clin Re Rev*, 1981; 1: 19-21.
2. Micheels J, Degiovanni G, Castermans A — Effect of various types of anesthesia combined with surgery on cell mediated immunity. *Acta Anaesth Bel*, 1978; 29:155-163.
3. Walton B — Anesthesia, surgery and immunology. *Anesthesia*, 1978; 33: 322-348.
4. Micheels J, Degiovanni G, Cayet A M — Effect of surgery and anesthesia on cell mediated immunity. *Acta anaesth Bel*, 1979; 30 (suppl.): 33-43.
5. Cascorbi H F — Effect of anesthetics on the immune system. *Int Anesthesiol Clin*, 1981; 19: 69-75.
6. Bruce D L, Wingard D W — Anaesthesia and the immune response. *Anesthesiology*, 1971; 34: 271-280.
7. Mathieu A, Kahan B D — Immunologic aspects of anesthetics and surgical practice. New York. Grune and Stratton, 1975.
8. Cullen B F, Duncan P G, Rau-Keil L — Inhibition of cell-mediated toxicity by halothane and nitrous oxide. *Anesthesiology*, 1976; 44: 386-390.
9. Moudgil G C, Wade A G — Anesthesia and immunocompetence. *Br J Anaesth*, 1976; 48: 31-39.
10. Duncan P G, Cullen B F — Anesthesia and immunology. *Anesthesiology*, 1976; 45: 522-538.
11. Buinauskas P, Broun E R, Cole W H — Inhibition and enhancing effect of various chemical agents on rat resistance to inoculated Walker 256 tumor cells. *J Surg Res*, 1965; 5: 454-456.
12. Agostinho D, Clifton E E — Anesthetic effect on pulmonary metastases in rats. *Arch Surg*, 1964; 88: 735-739.
13. Bradford-Hill P — Principles of Medical Statistics, 1959.
14. Siegel S — Estatística não paramétrica. São Paulo. Ed. Mc Graw-Hill do Brasil Ltda., 1977.
15. Egbert M, Hornsey S — Effect of nitrous oxide on the radio-sensitivity of mouse Ehrlich ascite tumor. *Nature*, 1958; 182: 1240-1253.
16. Hinkley R E, Telser A G — The effect of halothane on culture mouse neuroblastoma cells. *J Cell Biol*, 1974; 63: 531-540.
17. Kunz W, Schaudé G, Thomas C C — Die Beeinflussung der Nitrosamincarcinogenese durch Phenobarbital und Halogenkohlen Wasserstoffe *Z Krebsforsch*, 1969; 72: 291-304.
18. Eschenbrenner A B — Induction of hepatomas in mice by repeated oral administration of chloroform with observations on sex differences. *J Natl Cancer Inst*, 1945; 5: 251-255.
19. Corbett T H — Cancer and congenital anomalies associated with anesthetics. *Ann N Y Acad Sci*, 1976; 271: 58-63.
20. Parbrook G D — Experimental studies into the effect of nitrous oxide on tumor cell growth. *Br J Anesth*, 1967; 39: 549-553.
21. Cullen B F, Sundersmo J S — Failure of halothane anesthesia to alter growth of sarcoma in mice. *Anesthesiology*, 1974; 41: 580-584.
22. Sontag J M, Page N T, Saffioti V — Guidelines for carcinogen bioassay in small rodents. NCI-CG-TR-1. Technical Report Series n.º 1. DHEU Pub. n.º (NIH) 76-801. Washington DC. USA Government Printing Office, 1976.
23. Corbett T H — Carcinogenesis. *Int Anesth Clin*, 1981; 19: 99-120.
24. Park S K, Brody J I, Wallace H A, Blakemore W S — Immunossuppressive effect of surgery. *Lancet*, 1971; 1: 53-514.
25. Carcinogenesis Bioassay of trichloroethylene. CAS Report n.º 79-01-6, NIC-CG-TR-2. Bethesda, Md: National Cancer Research Institute Feb. 1976.
26. Report on carcinogenesis bioassay of chloroform. Carcinogenesis Program. Division of Cancer Cause and Prevention. Bethesda, Md. National Cancer Institute, 1976.
27. Eger E I, Whit A E, Borwn C L, Biava C G, Corbett T H, Stevens W C — A test of carcinogenicity of enflurane, isoflurane, halothane, methoxyflurane and isoflurane and nitrous oxide in mice. *Anesth Analg*, 1978; 57: 678-784.
28. Baden J C, Mazze R I, Wharton R S, Rice S A, Kosek J C — Carcinogenicity of halothane in swiss ICR mice. *Anesthesiology*, 1979, 51: 20-26.
29. Coate W B, Ulland B M, Lewis T R — Chronic exposure to low concentration of halothane — nitrous oxide: lack of carcinogenic effect in the rat. *Anesthesiology*, 1979; 50: 306-310.
30. Corbett T H, Cornell R G, Leidnig K — Incidence of cancer among Michigan nurse anaesthetists. *Anesthesiology*; 1973; 38: 260-263.
31. Cohen E N, Brown B W, Bruce D L — Occupational diseases among operating room personnel, a national study. *Anesthesiology*, 1974; 41: 321-340.
32. Bruce D L, Eide K A, Smith N J — A prospective survey of anesthesiologist mortality 1967-1971. *Anesthesiology*, 1974; 41: 71-79.
33. Cochran A J, Spilg W C S, Meckie R M, Thomas C E — Postoperative depression of tumor directed cell mediated immunity in patients with malignant disease. *Br Med J*, 1982; 4: 67-70.
34. Schatten W E, Kramer W M — An experimental study of postoperative tumor metastasis II. *Cancer*, 1958; 11: 460-474.
35. Bando T, Fujita T — The suppressive effect of halothane on DNA synthesis of immunocytes. *Br J Anaesth*, 1976; 48: 1129-1133.
36. Cohen E N — Anesthetics and cancer. *Anesthesiology*, 1976; 44: 459-460.