

## EFEITOS DA INALAÇÃO REPETIDA DE METOXIFLUORANO SOBRE RATOS

DR. J. ANTONIO ALDRETE (\*)  
RODERICK MACSWEEN (\*\*)  
CAROLYN HUNKA

AP 2245

*Foram expostos a concentrações de 0,2% de metoxifluorano por uma hora, três grupos de 10 ratos respectivamente por 10, 20 e 35 vezes. Foram feitos hemogramas em série e determinações da transaminase e foram preparadas lâminas dos tecidos após uma autopsia ao fim do período de estudo. Ainda um grupo foi tratado de forma semelhante mas respirando apenas ar, afim de servir como controle.*

*Não foram encontradas diferenças significativas nos resultados das determinações de hemograma, transaminase e ganho de peso. Na autopsia, foram encontradas lesões compatíveis com infecção pulmonar a vírus, em todos os grupos de animais. Entretanto encontra-se área de deposição de gorduras e áreas de necrose hepática em apenas alguns roedores expostos ao metoxifluorano e não naqueles que apenas respiraram ar. A implicação da inalação repetida de baixas concentrações de metoxifluorano são discutidas especificamente sobre o que aconteceria quando este analgésico é auto-administrado repetidamente.*

A partir do trabalho de Artusio (1) sobre as propriedades analgésicas do éter em grande cirurgia houve um maior interesse por este plano superficial de anestesia. Entre os hidrocarbonetos halogenados recentemente introduzidos em anestesia, alguns foram também estudados sob este ponto de vista sendo que o metoxifluorano aparece como o mais promissor.

Numerosos autores já relataram sobre a segurança relativa e a adaptabilidade do metoxifluorano em plano de analgesia em obstetrícia (2,3) ortopédia (4) e odontologia (5). Especificamente, quando a analgesia auto-administrada obtida com este agente anestésico deve ser conseguida com um limite máximo de concentração abaixo de 0,5% (6).

(\*) Do Departamento de Anestesiologia da Universidade de Louisville da Escola de Medicina de Louisville Kentucky.

(\*\*) Do Departamento de Patologia da Universidade de Glasgow, Escócia. Parte deste trabalho foi realizado na Universidade de Colorado, Denver, E. U.

Em outro campo no qual o metoxifluorano em plano de analgésico pode ser aplicado é o de permitir a mudança de curativos em pacientes queimados conforme foi sugerido por Packer e Titel<sup>(7)</sup>. Nestes pacientes pode-se tornar necessária a administração repetida do anestésico duas ou três vezes por semana ou por tempo indeterminado.

No presente estudo foi investigada a toxicidade potencial da exposição intermitente à concentrações sub-narcóticas de metoxifluorano sobre os vários órgãos e sistemas em ratos.

#### MATERIAL E MÉTODOS

Obtiveram-se do Laboratório Charles River 40 ratos da raça Sprague-Dawley do sexo masculino, desgermados, pesando entre 100 e 115 g. Separaram-se 4 grupos de 10 ratos cada um, denominados grupos A, B, C e D. Duas ou três vezes por semana os animais dos grupos A, C e D, eram colocados em câmaras especiais para anestesia de pequenos animais conforme descrito em outro artigo<sup>(8)</sup>. Em cada período de 4 semanas eram feitas 10 administrações do anestésico durante uma hora.

Fazia-se passar um fluxo de ar a 6 L/min através de um vaporizador Pentomatic e a saída deste vaporizador era conectada com um adaptador de 4 vias de modo que o fluxo era dividido para cada uma das três câmaras a razão de 2 L/min de ar contendo metoxifluorano. A concentração do anestésico nas câmaras era mantido em torno de 0,2% ( $\pm 0,05$ ); esta concentração foi verificada por colheita de amostras em dois locais diferentes das câmaras e medido num analizador de vapor Mayo.

Cada vez que os grupos experimentais A, C e D eram anestesiados, os ratos do grupo B eram colocados em uma câmara similar por um período de tempo igual, porém com os orifícios de entrada abertos para a atmosfera.

Nos períodos entre cada experiência os animais eram mantidos em câmaras separadas de outros roedores e eram observados para verificar qualquer sinal de doença. A sua alimentação consistia que porções de alimentos controlados em comprimidos e água. Todos os ratos eram pesados a cada duas semanas.

Foram obtidos espécimes de sangue das veias no plexo oftálmico sendo verificados o hematócrito, a hematimetria, a leucometria a contagem diferencial e analisada a transaminase, glutamico, oxalocetiva (SGOT). O hematócrito foi determinado com um método de micro-adaptação enquanto que a contagem dos glóbulos brancos e vermelhos foi feita

através de um contador Coulter. A transaminase (SGOT) foi determinada por método colorimétrico de Sigma. Antes de cada estudo eram obtidos controles de sangue e repetidos cada 2 semanas. A amostra final de cada grupo foi obtida com ratos ainda vivos pouco antes de serem sacrificados.

Os ratos dos grupos D, A e C, isto é, que inalaram o metoxifluorano, foram sacrificados 4, 8 e 14 semanas após o início da experiência. Os ratos do grupo controle (grupo B) colocados em câmaras apenas com ar, foram também sacrificados ao fim de 14 semanas de observação. Foi feita um autopsia com exame macroscópico e colheita de tecidos específicos da traquéia, timo, pulmão, coração, rim, baço, fígado e testículo e um esfregaço por aspiração de médula do fêmur. As lâminas de tecidos foram fixadas e coradas.

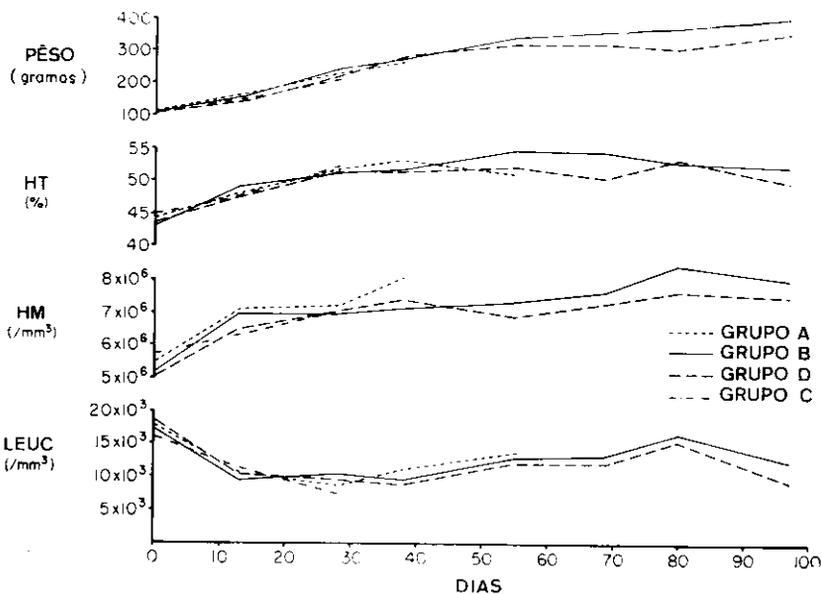


FIG. 1

Alterações verificadas no Ht, Hm e Leucometria dos Ratos.

## RESULTADOS

*Peso* — Todos os animais cresceram e ganharam peso; entretanto aqueles que apenas respiraram ar (grupo B) tinham peso mais elevado.

*Grau de consciência* — Após um período de excitação, que durava entre 10 a 15 minutos, os ratos que inalaram metoxifluorano pareciam estar levemente anestesiados, entretanto respondiam a estímulo dolorosos (pinçamento da cauda) com leves movimentos das extremidades e da cabeça.

*Hemograma* — O hematócrito tendia a aumentar gradualmente no grupo controle bem como no grupo experimental parecendo estar mais relacionado ao crescimento dos animais do que a qualquer outro fator.

Quanto as alterações médias da contagem de glóbulos brancos e vermelhos (Fig. 1) inicialmente havia uma pequena queda da leucometria em todos os grupos, seguida por um gradual retorno aos valores de controle. A hematimetria média aumentou ligeiramente no grupo controle bem como no grupo experimental, da mesma maneira que os valores de hematócrito.

As alterações na contagem diferencial de leucócitos eram mínimas e sem nenhuma especificidade. Os exames microscópicos dos esfregaços de sangue mostravam certo grau de hipocromia e a presença de células "alvo" no grupo experimental de ratos, que estavam ausentes no grupo controle. Estas alterações apareciam mais freqüentemente a medida que o tempo de observação era aumentado (Tab. I).

A análise estatística das alterações dos neutrófilos, leucócitos e eosinófilos bem como do hematócrito e da SGOT foi feita utilizando-se o método de análise de variância para testar a hipótese de que o grupo de tratamento seria diferente do grupo controle. A única diferença observada foi no valor do hematócrito após 2 meses, quando o grupo controle tinha 54,7% enquanto que o grupo tratado tinha uma média de 51,7% com uma diferença com um p menor 0.05.

*Mortalidade* — O número de animais estudados em cada sessão está ilustrado na tabela I. Inicialmente os 4 grupos incluíam 10 ratos, mais 1 dos animais morreu pouco após a colheita do sangue no grupo A, provavelmente responsável pelo óbito de mais 2 ratos, 1 após 10 e outro após 12 semanas de observação do grupo B (grupo controle respirando ar). Não ocorreu nenhum óbito no grupo C que foi exposto ao metoxifluorano num total de 36 vezes.

Entre a 6.<sup>a</sup> e a 8.<sup>a</sup> semana de observação 3 ratos do grupo A morreram, do que pareceu ser uma infecção de vias aéreas superiores. Foram retiradas culturas das vias aéreas e pulmão que foram negativas para micro-organismos patogênicos; pode-se apenas inferir que esta infecção foi causada por um vírus.

*Determinações da transaminase* — Não se verificou nenhuma alteração significativa desta enzima em todos os

grupos quando os valores médios obtidos eram comparados com os valores do grupo controle. Havia entretanto alguma variação entre os grupos de animais estudados. Todos os valores médios eram acima do normal, em comparação a outras espécies (cão ou homem) porém não tínhamos nenhum dado de ratos que pudessem ser obtidos na literatura, parecendo-nos possível que o valor achado era normal para este tipo de ratos.

TABELA I

PRESENÇA DE CITOLOGIA ANORMAL EM ESFREGAÇO DE SANGUE  
Semanas de Observações

GRUPOS	2	4	6	8	10	12	14
A (10)	Hipocromia 1 Celulas «alvo» 1 (9)	0 (9)	0 (9)	Hipocromia 1 (6) Sacrificados			
B (10)	0 (10)	0 (10)	0 (10)	0 (10)	0 (10)	0 (8)	0 (8) Sacrificados
C (10)	0 (10)	0 (10)	0 (10)	0 (10)	Hipocromia 6 Celulas «alvo» 4 (10)	Hipocromia 5 Celulas «alvo» 3 (10)	Hipocromia 5 Celulas «alvo» 4 (10) Sacrificados
D (10)	0 (10)	0 (10) Sacrificados					

( ) Número de animais estudados por grupo

*Patologia macroscópica* — Ao ser sacrificado, após 14 semanas de estudo, um rato do grupo C apresentava um abscesso confirmado por microscopia.

*Outras lesões* — Apenas um rato do grupo C apresentou uma infecção conjutival em local de punção. Neste momento o leucograma estava em 10.000 sem nenhuma alteração significativa da contagem diferencial. Esta infecção desapareceu espontaneamente nos três dias seguintes.

*Observações histológicas* — Para comparar as lesões observadas nos diversos órgãos, os ratos de cada grupo foram numerados de 1 a 10.

**Grupo B (Controle)** — Sacrificados após 14 semanas e expostos apenas ao ar: coração, timo, rim, fígado, baço e testículos não mostraram nenhuma anormalidade. Os pulmões dos ratos B2, B3 e B10 mostravam agregados linfoides focais em relação a alguns bronquíolos. Estes eram compostos de grandes células reticulares, muitas das quais mostravam uma relação núcleo-citoplasmática aumentada bem como um número maior de figuras mitóticas. Observaram-se também nos agregados algumas células plasmáticas e linfócitos cuja natureza não foi estabelecida com certeza, mas que pode estar relacionada a uma infecção endógena por vírus.

**Grupo A** — Estes animais inalaram metoxifluorano 20 vezes e foram sacrificados após 8 semanas. O coração, timo, rim, baço e testículos não mostraram nenhuma anormalidade. Havia alguns focos pequenos de necrose de células hepáticas com reação celular nos ratos A1 e A3. Os ratos A6 e A9 apresentavam traqueíte aguda e crônica. Nos pulmões, havia pequenos focos similares aos descritos no grupo B notados também nos ratos A1, A2, A5 e A6. Havia também ainda áreas de consolidação em resolução e broncopneumonia nos ratos A1, A2, A3 e A9. Nos ratos A5 e A6 haviam lesões similares porém menos extensas.

**Grupo C** — Foram expostos ao metoxifluorano 35 vezes e sacrificados após 14 semanas. O coração, timo, rim, baço e testículos destes animais não demonstraram nenhuma anormalidade. O fígado de C7 e C9 mostrava ligeira necrose centrolobular, com acúmulo de gotículas de gordura nos hepatócitos. Havia ainda traqueíte aguda e crônica nos ratos C1, C2, C4, C5 e C9, bem como hemorragia intra-pulmonar em C2 com uma larga cavidade abcedada e área circunvizinha de broncopneumonia. No rato C4 havia um pequeno abscesso e ainda pequenas áreas de broncopneumonia em resolução. Foi observada ainda hemorragia intra-pulmonar e algumas pequenas áreas de broncopneumonia em C6. Agregados linfóides similares aos observados no grupo B foram vistos nos pulmões de C3, C5, C7 e C8, enquanto que em C3 haviam alterações leves de broncopneumonia. No entretanto, os pulmões de C1 e C9 não demonstraram nenhuma alteração.

**Grupo D** — Expostos ao metoxifluorano dez vezes e sacrificados após 4 semanas. O coração, rim, timo, baço e testículos não demonstraram nenhuma anormalidade. Nos ratos D1, D2 e D6 havia pequena área de necrose hepática centrolobular com algum acúmulo de gordura. Havia também pequeno grau de traqueíte aguda em D3 e D5. O rato D8

apresentava evidência de hemorragia intra-pulmonar. Apareceram áreas de broncopneumonia em resolução em D3 e D5 com alguns alvéolos aparentemente preenchidos com macrofagos pulmonares. Observaram-se ainda agregados linfóides em D1, D3 e D5.

#### DISCUSSÃO

Recentemente vários autores chamaram a atenção para a possibilidade da nefrotoxicidade associada a anestesia com metoxifluorano. Entretanto, apenas em alguns casos este anestésico foi implicado na causa de lesão hepática (9,10,11,12).

Em pacientes anestesiados com metoxifluorano para grande cirurgia, notaram-se algumas alterações inconstantes nas provas de funções hepáticas. Tornetta e Boger (13) observaram escassa evidência de que este anestésico pudesse produzir efeitos adversos sobre o fígado, de acordo com as provas funcionais por eles usadas.

Artusio (14) comparando a função hepática após a administração de anestésicos halogenados notou em alguns casos retenção de bromosulfaleína e algumas alterações esporádicas das transaminases, fosfatase alcalina e da prova da turvação do timol. Apesar destas anormalidades laboratoriais não ocorreram mais freqüentemente do que em grupo de pacientes com ciclopropano mesmo assim o autor recomendava que a exposição a qualquer um destes agentes deve ser apenas uma única vez em cada hospitalização, para intervenções que não sejam no quadrante superior direito do abdome e em paciente sem doença hepática.

Da mesma forma que o para o halotano a lesão hepática nestes casos seria resultante de um mecanismo de hipersensibilidade, como já foi sugerida para a patogenese (10,15), necessitando de uma ou mais administrações deste composto químico ou similar. Até a presente data apenas alguns estudos experimentais em animais tem conseguido substanciar esta afirmação. Giesecke e col (16) após a anestesiarem cães em jejum prolongado com concentração alta de metoxifluorano encontraram uma degeneração hidrópica nos ribosomas hepáticos e infiltrado de gotículas de gordura, os quais eram aparentemente reversíveis.

No fígado isolado de cães Strumin e col (17) observaram que a administração de metoxifluorano a 1% durante 60 minutos levava a um aumento da pressão venosa no sistema porta, uma diminuição de eliminação da bromosulfaleína e da secreção biliar e um aumento da relação lactato-piruvato. Quando se suspendia a administração do anestésico havia uma perda de glicose hepática e potássio.

Em ratos, sob condições experimentais diferentes, a inalação repetida de concentrações altas de metoxifluorano produziu degeneração gordurosa (18), esteatose com alteração do ácido ribonucleico, glicogênio, fosfatase ácida e alcalina, lipases e dehidrogenase succinica (19). Outros investigadores usando camundongos em exposições repetidas notaram um dano do retículo endoplasmático com evidência de dificuldades da captação de lipoproteínas pelos hepatócitos (20); no citoplasma, encontravam-se infiltrações gordurosas com transformação do retículo endoplasmico em vesículas e com intumescimento das mitocôndrias. No fígado dos ratos anestesiados 5 vezes cada 2 dias com 0.2 a 1% de metoxifluorano, observou-se perda de glicogênico com diminuição da desidrogenase succinica e alterações da oxidredutase no ciclo de Krebs. Morfologicamente havia um aumento da infiltração gordurosa em todos os animais (21).

No presente estudo houve uma pequena diferença no ganho de peso entre o grupo controle e aqueles expostos ao metoxifluorano repetidamente, porém, não significativa. Da mesma maneira não se encontrou diferenças significativas nas contagens sanguíneas no grupo experimental e no grupo controle, com exceção da aparecimento de hipocromia e células "alvo" no grupo experimental, mas não no grupo controle. Apesar de se verificar uma diferença significativa no valor do hematócrito ao fim de dois meses é de se duvidar que esta diferença seja importante (54.7 e 51%). Esses achados diferem de observações prévias com outros anestésicos que fizemos, também em ratos, expostos continuamente por 6 dias a concentrações sub-anestésicas (22). O metoxifluorano quando administrado nestas mesmas condições experimentais pode diminuir a contagem de leucócitos e deprimir a celularidade da medula óssea (23). Entretanto a inalação repetida, aqui descrita, não mostrou a produção de efeito similar. O valor da SGOT apesar de mais alto do que em outras espécies, não mostrou diferença significativa entre o grupo controle e os grupos tratados.

Aparentemente também não se encontrou nenhum achado importante macroscopicamente nas autopsias dos dois grupos. Microscopicamente os agregados linfóides compostos principalmente de células reticulares foram achados nas regiões peribronquiais bem como broncopneumonia e áreas de consolidação em alguns animais de todos os grupos estudados. Estas alterações patológicas podem ser devidas a uma infecção por vírus que freqüentemente abate colônias de ratos em laboratório de pesquisas.

Parecem-nos muito interessantes as pequenas áreas de necrose hepática centrolobular e acumulação de gorduras e

ocasionalmente com reação celular com a sua periferia que foram encontrados em alguns, mas não em todos os animais, que inalaram metoxifluorano por tempos variados. Em nenhuma ocasião estes achados patológicos foram anotados em animais do grupo controle. O fígado normal apresenta de 3 a 6% do seu peso em substância gordurosa, finamente dispersa e que não pode ser demonstrada por estudos histológicos de rotina sobre microscopia de luz. Em condições anormais as gorduras se acumulam em gotículas. A degradação e síntese nos ácidos graxos e a cisão dos triglicerídeos ocorre nas mitocôndrias do fígado que contém todas as enzimas necessárias a oxidação dos ácidos graxos. Os lipídios podem se acumular nas vesículas do aparelho de Golgi localizado no protoplasma dos hepatócitos (<sup>24</sup>).

O significado deste acúmulo lipídico no citoplasma não está muito claro; Uzunalimoglu e col (<sup>25</sup>) também encontraram lipídios no citoplasma do parenquima hepático de três pacientes que faleceram após uma anestesia recente com halotano. Neste caso o glicogênio era abundante em contraste com as observações de outros autores, em ratos (<sup>19</sup>). Entretanto, havia um retículo endoplasmático bastante grosseiro, contendo vesículas dilatadas e um deslocamento focal de ribossomos, semelhante às observações feitas por outros investigadores (<sup>18,20,21</sup>) em roedores após exposição repetida ao metoxifluorano.

Se nos permitirmos uma extrapolação, sem perder a perspectiva da sua limitação pode-se dizer que a exposição repetida a alguns hidrocarbonetos halogenados usados como anestésicos, pode causar em pacientes susceptíveis o início de uma reação imunitária da qual o fígado é a origem bem como o seu foco. O que faz determinados pacientes serem susceptíveis e outros não ainda é desconhecido. Há possibilidade de que haja uma aberração congênita de mecanismo enzimáticos, e que porém não está provado. De qualquer maneira a circulação de anticorpos antimitocondria específicos foram demonstrados em pacientes sensibilizados ao halotano (<sup>26</sup>) consubstanciando ainda mais um fenômeno de imunidade. Os animais que tinham áreas de necrose hepática e aumento de gotículas de gorduras não apresentavam aparentemente nenhuma patologia macroscópica, mas é sugestiva que a inalação repetida deste agente anestésico, metabolizado no fígado, possa causá-los. Esta conclusão é feita por exclusão, mas à base literatura já referida e dos resultados deste estudo, tornam-se mais necessárias mais investigações com administrações repetidas de metoxifluorano em baixa concentração antes de incriminar ou absolver esta droga no seu potencial de lesão sobre a célula hepática.

## SUMMARY

## EFFECT OF REPEATED INHALATION OF METHOXYFLURANE ON RATS

Three groups of 10 rats each were exposed to 0.2% methoxyflurane for one hour 10, 20 and 35 times respectively. Serial hemograms and SGOT determinations were performed and tissue slides prepared postmortem at the end of the study period. One more group was treated similarly, except for being exposed only to atmospheric air.

No significant differences were seen in the results of determinations of hemograms, SGOT and in weight gain. At postmortem, lesions compatible with pulmonary viral infection were seen in all the groups of animals. However, fat deposition and areas of hepatic necrosis were only observed in the rodents exposed to methoxyflurane and not in those breathing air.

The implications of repeated inhalation of low concentrations of methoxyflurane are discussed, specifically as it would be when used as analgesic in a self-administered manner.

## REFERENCIAS

1. Artusio J F, Jr — Analgesia During Major Surgery. *J.A.M.A.* 157:(1) 33-36, 1955.
2. Shnider, S M, Steffenson J L and Margolis A — Methoxyflurane Analgesia in Obstetrics. *Obstet & Gynec* 33:594-595, 1969.
3. Marx G F, Chen L K and Tabora J A — Experiences with a Disposable Inhaler for Methoxyflurane Analgesia During Labour: Clinical and Biochemical Results. *Canad Anaesth Soc J* 16:66-71, 1969.
4. Carolan P J — Orthopedic Patients Sedate Selves. *J.A.M.M.* 206:2635, 1968.
5. Drangon A and Goldstein I — Methoxyflurane: Preliminary Report on Analgesic and Mood-Modifying Properties in Dentistry. *J.A.D.A.* 75:1176-1181, 1967.
6. Payne J P — Advances in Anaesthesia. *Practitioner* 201:652-658, 1968.
7. Packer K J and Titel J H — Methoxyflurane Analgesia for Burns Dressings: Experience with the Analgizer. *Brit J Anaesth* 41:1080-1085, 1969.
8. Aldrete J A and Jordan C — A Chamber for Exposure of Small Animals to Anesthetil Gases for Long Periods. *Anesthesiology* 32:464-465, 1970.
9. Durkin M G, Brick I B and Schreiner G E — Fatal Hepatic Necrosis Following Penthrane Anesthesia *Gastroenterology* 50:420, 1966.
10. Klein N C and Jeffries G H — Hepatotoxicity after Methoxyflurane Administration. *J.A.M.A.* 197:1037-1039, 1966.
11. Kataoka Y et al — Liver Necrosis after Methoxyflurane Anesthesia. *Jap S Anesth* 14:1158-1162, 1965.
12. Stefanni M, Herland A and Kosyak E P — Fatal Massive Necrosis of the Liver after Repeated Exposure to Methoxyflurane. *Anesthesiology* 32:374-378, 1970.
13. Tornetta and Boger W P — Methoxyflurane and Liver Function. *Arch Surg* 90:253-260, 1965.
14. Artusio J F — Effects of Anesthetic Agents on the Liver. *Anesth & Analg* 44:587-593, 1965.
15. Elkington G G, Goffinot J A and Conn H D — Renal and Hepatic Injury Associated with Methoxyflurane Anesthesia. *Ann Int Med* 69:1229-1236, 1968.
16. Giesecke A H Jr, Clark J R, Stenbridge V A, Kallus F T and Jenkins M T — Electron Micromorphologic Response of the Dog Liver to Halogenated Anesthetics. *Anesthesiology* 27:214-215, 1966.

17. Strunin L, Walker W D, Coultas R J, Strunin J M, Reynard A and Simpson B R J — A Comparison of the Effects of Halothane and Methoxyflurane on the Isolated Perfused Canine Liver. *Acta Anaesthesiol. Scand Suppl* 37:203-204, 1970.
18. Eger W and Nassr-Esfahani H — The Effect of Halothane on the Damaged Liver in Comparison with that of Penthrane and Ether Anesthesia. *Klin Wschr* 45:889-890, 1967.
19. Turchini J, Du Cailar J, Catayee G and Laures M — The Effect of a Volatile Anesthetic, Methoxyflurane, on Some Organs of Rodents. *Experimental Chronic Toxicity Studies. C R Soc Biol* 159:1814-1816, 1965.
20. Inamoto A, Okamoto T and Matsuo Y — Electron Microscopic Investigation of the Hepatotoxic Effects Following the Repeated Use of Various Anaesthetic Agents. *Proceedings of IV World Congress of Anaesthesiologists Excerpta Medica Foundation* 931-918, 1970.
21. Gurtner T, Kreutzberg G W, Schellenberger A and Fisher J — Effects of Halothane and Other Anaesthetic Agents on Rat Liver. *Proc. of III World Cong of Anaesthesiologists* 3:108-114, 1964.
22. Aldrete J A and Virtue R W — Effects of Prolonged Inhalation of Anesthetic and Other Gases on Blood and Bone Marrow of Rats. In *Toxicity of Anesthetics*, Ed B R Fink. Williams & Wilkins Co., Phila. pp. 105-113, 1968.
23. Aldrete J A — unpublished data.
24. Wakim K G — Basic and Clinical Physiology of the Liver, Normal and Abnormal. *Anesth & Analg Suppl* 44:640-710, 1965.
25. Uzunalimoglu B, Yardley J H and Boitnott J K L — The Liver in Mild Halothane Hepatitis: Light and Electron Microscopic Findings with Special Reference to the Mononuclear Cell Infiltrate. *Amer J Path* 61:457-479, 1970.
26. Rodriguez M, Paronetto F, Schaffner F et al — Antimitochondrial Antibodies in Jaundice Following Drug Administration. *J.A.M.A.* 208:515-522, 1969.



A Biblioteca da Cátedra de Anestesiologia da Universidade de Caracas está interessada em adquirir a coleção da revista "Minerva Anestesiológica", ano de 1963. Qualquer leitor que disponha desta coleção e possa vendê-la queira se comunicar com a bibliotecária da referida cátedra Sra. Dolly S. de Nesi no seguinte endereço:

Cátedra de Anestesiologia do Hospital Universitário de Caracas — Caracas, 105 — Venezuela.