豫防醫學會誌；第17卷 第1號
Korean J. of Preventive Medicine
Vol, 17, No. 1, September, 1984.

Mercury chloride 및 Methylmercury chloride가 正常人의 血液培養에서 淋巴球의 姉妹染色分體交換에 미치는 影響

全北大學校 醫科大學 豫防醫學教室
〈指導 黃 仁 澹 教授〉

高 大 河

=Abstract=

Sister Chromatid Exchanges in Lymphocytes on Normal Human Blood Culture with Mercury chloride or Methylmercury Chloride

Dai Ha Koh, M.D.

Department of Preventive Medicine & Public Health, Chonbug National University Medical School
(Directed by Prof. In Dam Hwang, M.D., M.P.H., Ph.D.)

Reciprocal exchanges of DNA in sister chromatids (SCEs) are induced by various carcinogens and mutagens, although the quantitative relationship between the number of mutations and SCEs induced varies among chemicals. Nevertheless, the analysis of SCEs production by various agents often proposed as a sensitive and quantitative assay for mutagenicity and cytotoxicity.

Mercury, even if which has no evidences for mutagenicity and carcinogenicity, is reported to exert some cytotoxic effects, such as chromosomal aberrations or bad influences to ovulation and reproduction in experimental animals, etc..

In this study, tests for sister chromatid exchanges have been carried out on normal human lymphocytes in whole blood culture to add mercury chloride ($HgCl_2$) or methylmercury chloride (CH_3HgCl) for 72 hr.

The results indicate the dose-dependent relationship between the frequencies of SCEs and the concentrations of $HgCl_2$, CH_3HgCl and 5-bromo-2′-deoxyuridine (BrdU). Lymphocyte proliferation has depressed in the higher concentration of mercury.

I. 緒 論

수은은 주로 중추신경계와 신장의 이상을 초래함으로써 특징적인 중독증상을 나타내는데, 일반적으로 수은중독은 수은에 지속적으로 노출되는 작업조건의 근로자에게 많은 직업적중독과 이들 산업장에서 배출되는 무기 및 유기수은에 의한 환경오염으로부터 야기되는 간접적인 중독으로 구분된다.[1~3]

특히 후자의 예로서 1950년대 일본의 minamata와 niigata에서 발생한 소위 minamata disease와 1971~1972년에 Iraq에서 발생한 오염된 곡물로 인한 중독사건은 엄청난 인명피해를 기록함으로써 수은중독에 대한 경각심을 불러일으킨 바 있다.[1,4~6]

수은중독에 관한 현재까지의 연구는 주로 임상적인 면에서의 기질적, 기능적 장애와 더불어 환경 및 생체내에서의 수은농도를 보다 정확하게 측정코자 하는 쪽으로 집중되어 왔으며, 수은에 의한 직접적인 세포독성에 관한 연구는 매우 적은 편이다. 그러나 Spann등(1972)[7]은 유기수은이 조류에서 산란 및 부화에 뚜렷한 장애를 일으킴을 관찰하였으며, Watanabe등(1982)[8]도 실험동물에서 유기 및 무기수은의 피하주사가 골수

세포의 염색체변이를 유도할 수 있다는 사실을 확인하였다. 또한 Skerfving등 (1970)[9]은 유기수은으로 오염된 생선을 섭취함으로써 정상인에 비해 높은 혈중수은농도를 나타낸 사람들의 임파구를 배양하여 염색체를 관찰한 결과 대조군에 비해 염색체의 형태적변이가 현저히 증가되어 있음을 보고한 바 있고, Popsecu등 (1979)[10]은 유기 및 무기수은에 직업적으로 노출된 근로자에서도 Skerfving등 (1970)[9]과 비슷한 결과를 얻었다.

상기의 연구들은 비록 임상적인 증거는 없으나, 수은이 직접적으로 세포독성, 특히 염색체의 변이를 일으킬 수 있다는 가능성을 강력히 시사해주고 있다.

염색체의 구조 및 염색체의 손상, 기타 유전적질환의 연구에 유용한 정보를 제공하는 것으로 알려진 자매염색분체교환(sister chromatid exchange: SCE) 현상은 일찌기 Taylor 등(1957)[11]이 autoradiography를 이용하여 식물세포에서 최초로 관찰한 이래, Latt(1973)[12]가 고안한 BrdU(5-bromo-2′-deoxyuridine) 존재하에서의 형광염색법이 염색분체의 대조염색을 가능케 하므로써 SCE의 관찰을 종래의 autoradiography에 의한 것보다 훨씬 용이하게 하였고, 또한 Perry 등(1974)[13]은 Latt (1973)[12]의 방법에 Giemsa 염색을 덧붙여 보다 높은 해상력으로써 SCE의 관찰을 가능케 하였다.

SCE현상은 그 발현빈도가 발암물질이나 돌연변이 유도물질 등에 의해 증가된다는 것이 증명되어 최근에는 세포독성이 기대되는 환경오염물질, 항암제 등의 생물학적 독성검정에 널리 적용되고 있다.

SCE의 빈도가 세포독성을 예민하게 반영한다는 증거에 대해 Perry 등(1975)[14]은 SCE의 출현빈도가 동일조건하에서의 염색체의 절단 및 이실 등의 형태적이상의 빈도와 매우 밀접한 상관관계를 보인다는 점을 들었고, Carrano 등(1978)[15]은 이미 세포독성 및 염색체변이가 알려진 여러물질들의 독성정도에 따라 SCE의 빈도 역시 비례함을 확인하였으며, Bradley 등(1979)[16]도 SCE가 발암 및 변이와 관계 있을 뿐 아니라, DNA 손상으로부터 기인되는 각종 유전적 결함을 밝히는데 예민하고도 정량적인 검정법으로서 가치가 있다고 주장한 바 있다.

본 연구에서는 사람의 혈액을 배양하는 조건에 무기수은(mercury chloride; $HgCl_2$)과 유기수은(methyl mercury chloride; CH_3HgCl)을 첨가시켜, SCE 발현빈도의 변화를 관찰하고, SCE의 빈도와 각각의 수은농도와의 관계를 정량적으로 규명함으로써 수은의 세포독성에 대한 정보를 얻고자 시도하는 바이다.

II. 實驗材料 및 方法

A. 세포배양

배양을 위한 혈액은 건강한 성인남자의 주정맥으로부터 heparin을 가하여 채혈하였다.

세포배양은 Latt(1973)[12]의 방법에 준하였는데, 요약하면 다음과 같다.

배지는 15% fetal calf serum (FCS, GIBCO) 및 3% phytohemagglutinin-M(PHA-M, GIBCO)을 첨가한 RPMI-1640(GIBCO)에 penicillin-G (100 units/ml, 한독약품)와 streptomycin(100μg/ml, 국제약품)을 가하여 제조하였고, 배지 5ml에 각각 0.2m의 혈액을 접종하여 혼합한 후 CO_2-부란기(37°C, 5% CO_2)에서 72시간 배양하였다.

한편 실험은 두 과정으로 나누어 실시하였는데, 우선 5-bromo-2′-deoxyuridine(BrdU, Sigma)만을 첨가하여, BrdU의 각 농도별로 SCE 빈도를 관찰하였고, 다음 단계에서 SCE를 유의하게 증가시키지 않고 또한 대조염색상이 비교적 안정되게 나타나는 BrdU 20μM 농도에 methylmercury chloride(CH_3HgCl, Kanto chemical Co., Inc.)와 mercury chloride($HgCl_2$, Kanto chemical Co., Inc)를 첨가하여, SCE의 빈도변화를 관찰하였다.

B. 염 색

배양된 세포는 고정 3시간전에 colchicine(0.4μg/ml, Sigma)으로 처리하여 그 이상의 세포분열을 중지시켰으며, 이를 원심하여 상청액을 제거한 뒤 0.675M KCl 저장액에 5분간 정치하였고, 다시 methanol과 glacial acetic acid의 3 : 1 용액에 3회 노출시키므로써 고정을 끝냈다.

고정된 세포들을 microslide상에 점적하고 공기중에 건조시켜 Perry 등(1974)[13]의 방법에 따라 fluorescence-plus-Giemsa 염색을 가하였다. 즉 Hoechst-33258을 Soerensen's 완충용액(pH6.8)에 0.5μg/ml의 농도로 희석한 용액으로 12분간 형광염색을 하였고, 이에 인산완충용액(pH8.0)을 점적한 뒤 coverslip을 씌워 형광등(20W, 거리 ; 10cm)하에서 정치하였다. 10~12시간 후 coverslip을 제거하고 3% Giemsa(Merck) 용액에 30分간 염색하였다.

C. 관 찰

염색이 끝난 slide는 Soerensen's 완충용액(pH6.8)에 2~3회 정도 가볍게 세척한 후 공기중에서 건조시켜,

Table 1. Frequency of SCE in Metaphase Lymphocytes Treated with the Several Concentrations of BrdU for 48hr.

Concentration of BrdU	No. of metaphase observed	Mitotic index	Counted SCE	Frequency of SCE(per one metaphase cell)
5×10^{-6}(M)	30	3.6(%)	176	5.9±1.91
1×10^{-5}	30	2.8	163	5.4±1.98
2×10^{-5}	30	4.3	197	6.6±1.89
4×10^{-5}	30	4.9	286	9.5±2.39**
8×10^{-5}	30	4.0	311	10.4±2.33**

Mitotic index based on the analysis of 250~300 cells per given concentration of BrdU.
** significant difference from first concentration of BrdU ($p<0.01$).

emersion oil을 점적하여 관찰하였다.

세포분열지수(mitotic index)는 100배 시야에서 측정하였고, SCE의 빈도는 2차분열의 중기(secondary metaphase) 염색체만을 찾아 1000배 시야에서 관찰하였다.

III. 成 績

A. BrdU농도와 SCE의 빈도

BrdU는 5μM부터 80μM까지의 농도로 처리하였는데, 최저농도인 5μM에서의 SCE 빈도는 세포당 5.9±1.91이었으며 20μM까지는 별다른 차가 없었으나($p>0.05$), 40μM(9.5±2.39)부터는 그 빈도가 현저히 증가되므로써($p<0.01$), BrdU 농도증가에 따라 SCE의 빈도 역시 증가하는 경향이었고(표 1), 염색분체의 대조염색상의 BrdU 농도가 20μM 이상인 조건에서 그 이하의 농도(5~10μM)의 것보다 훨씬 안정되어 있었다.

한편 세포분열지수(Mitotic index)는 2.8~4.9%의 분포였는데 BrdU 농도변화와는 무관하였다($p<0.05$, 그림 1).

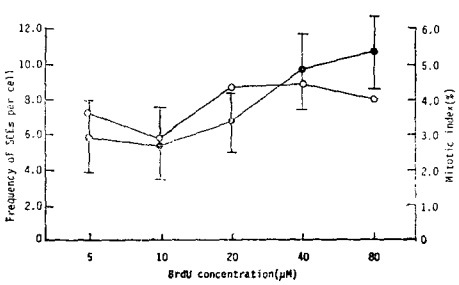

Fig. 1. The number of sister chromatid exchanges per one metaphase cell(●) is shown together with mitotic index(○) in the several concentration of BrdU.

B. 수은에 의한 SCE의 빈도변화

BrdU 농도는 20μM로 균일하게 처리한 조건에서 $HgCl_2$와 CH_3HgCl을 각각 0.08μM부터 50μM까지의 농도로 첨가함으로써 SCE의 빈도변화를 관찰하였다.

표 2는 $HgCl_2$에 의한 변화를 나타낸 것인데 $HgCl_2$가 전혀 첨가되지 않은 경우 SCE는 6.6±1.52로서 오직 BrdU 자체에 의한 영향(표 1 참조)만을 보이고 있으나, $HgCl_2$의 농도증가에 따라 SCE의 빈도가 현저히 증가함을 알 수 있다.

CH_3HgCl의 경우도 표 3에서와 같이 농도증가에 따라 SCE의 빈도증가에 매우 큰 영향을 보이고 있으나, 그 농도가 10μM인 경우 염색체의 염색상이 매우 흐리고 개개의 염색체들이 서로 집적되어 있기 때문에 SCE를 계수키가 거의 불가능하였으며, 50μM의 농도에서는 분열중인 세포를 관찰할 수 없었다.

한편 그림 2에서 보는 바처럼 수은농도증가에 의해 전반적으로 SCE의 빈도는 증가되고 있으나 세포분열지수는 0.4μM을 제외하고는 감소하는 경향으로써, $HgCl_2$나 CH_3HgCl 공히 10μM 이상의 농도에서는 세

Table 2. The Frequency of SCEs and the Mitotic Index in Human Lymphocytes Treated for 72 hr with Various Concentrations of Mercury Chloride

Concentration of $HgCl_2$	Mitotic index	SCEs per cell
0(control)#	3.3(%)	6.6±1.52
8×10^{-8}(M)	3.2	7.6±2.19*
4×10^{-7}	4.5	9.4±1.87***
2×10^{-6}	2.8	14.2±1.42***
1×10^{-5}	1.3	13.7±1.57***
5×10^{-5}	0.4	144.4±1.37***

* $p<0.05$, ***$p<0.001$(one-tailed Student's t-test).
#only BrdU(20μM) added.

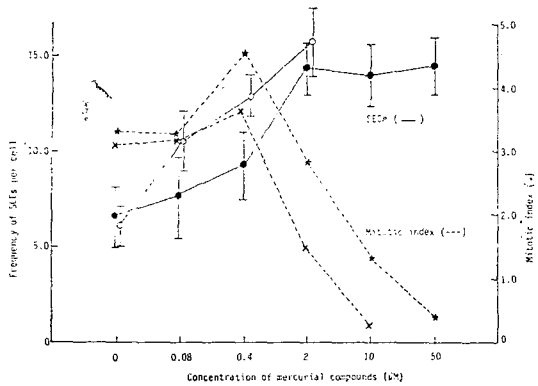

Fig. 2. The number of sister chromatid exchanges per one metaphase cell is increased in the higher concentrations of mercury chloride(●) or methylmercury chloride(○), while mitotic indices($HgCl_2$: "*", CH_3HgCL: "×") were decreased. BrdU concentration was fixed to 20μM.

Table 3. The Frequency of SCEs and the Mitotic Index in Human Lymphocytes Treated for 72 hr with Various Concentrations of Methylmercurychloride

Concentration of CH_3HgCl	Mitotic index	SCEs per cell
0(control)#	3.1(%)	6.1±1.21
8×10^{-8}(M)	3.2	10.5±1.55***
4×10^{-7}	3.6	12.7±0.96***
2×10^{-6}	1.5	15.7±1.70***
1×10^{-5}	0.3	a.
5×10^{-5}	no growth	b.

*** $p<0.001$. #Control was the same as Table 2.
a. SCEs cannot be scored because chromosomes in metaphase were stained weak and aggregated.
b. Metaphase cells were not revealed.

포분열이 현저히 억제되는 현상을 나타냈다.

IV. 考 按

자매염색분체(sister chromatids)의 대조염색이 가능한 것은 Latt(1973),[12] Perry 등(1974)[13] 및 Morimoto 등 (1980)[17]에 의해 이미 밝혀진 바와 같이 다음의 사실로부터 근거한다.

즉 세포분열을 위한 DNA 복제시 thymidine 염기의 위치에 이의 유도체인 BrdU가 대치되므로써, 각 염색분체의 DNA 나선 구조중 한쪽은 BrdU가 위치하나, 다른 한쪽은 thymidine이 원래대로 남게되고, 다시 이 세포가 제 2 차분열을 시작하면 한쪽의 염색분체는 DNA 나선구조가 1차분열때와 동일하게 한쪽만이 BrdU로 대치되나, 이의 자매염색분체는 DNA 나선구조의 양쪽이 모두 BrdU로 대치되는데, BrdU로 대치된 부분은 형광염료 및 Giemsa 용액과 친화력이 없기 때문에 2차분열중기(2ndary metaphase)에서 자매염색분체의 구분이 선명한 대조염색을 이룬다.

Davidson 등(1980)[18] 및 Bannerman 등(1984)[19]은 SCE의 빈도가 배지내에 첨가되는 BrdU 농도 및 혈액량에 따라 매우 큰 폭으로 변동하며, 세포분열자극제인 phytohemagglutinin의 농도에 의해서도 영향을 받는다는 것을 알아냈으며, Stetka 등(1977)[20]은 형광염료인 Hoechst 33258도 자체로써 SCE의 빈도를 증가시킬 뿐 아니라, BrdU와 더불어 상승적으로 SCE의 빈도를 증대시킴을 관찰하였다.

따라서 실험과정에 첨가되는 시약들이 SCE 빈도에 복합적으로 미치는 영향을 완전히 배제시킬 수는 없는 것이며, 다만 그 영향을 최소화시킨 조건에서 정상인의 SEC 빈도를 측정하여 이를 기준하여 SCE 빈도의 증감을 비교해야 한다.

본 실험에서의 BrdU 농도에 따른 SCE 빈도는, 혈액량(0.2ml/one culture tube)과 PHA 농도 (2%) 및 기타 염색조건을 Davidson(1980)[18] 및 李등(1984)[21]의 조건과 거의 동일하게 처리했음에도, 이들의 결과보다 전반적으로 낮은 빈도였다. 그러나 BrdU 농도증가에 의한 SCE 빈도증가의 양상은 40μM 이후부터 급속히 상승한다는 점에서 일치하였다.

악성종양 및 여러질병조건에서의 SCE 빈도는 정상인의 것보다 현저히 증가함이 보고된 바 있으며,[22~25] 또한 cyclophosphamide 등의 항암제[26,27]와 마취제[28], 기타 세포독성이 알려진 방사선이나 여러화학물질 등도 SCE 빈도를 높이는 것이 확인되었지만,[14,15,29~31] 중금속에 대한 SCE 연구는 거의 없다.

본 연구에서 수은은, 무기수은이든 유기수은이든, 비교적 저농도에서도 SCE 빈도를 현저히 증가시키며, 특히 2μM 이상의 농도에서는 대조군에서 보다 2배 이상 증가하는 것으로 나타났다.

또한 유기수은(CH_3HgCl)의 경우, 10μM 임파구의 세포분열이 거의 일어나지 않을 뿐 아니라, 그 이하의 농도에서도 대체로 무기수은($HgCl_2$)보다 높은 SCE 빈도를 보이고 있어, 이같은 사실은 이미 알려진 바와 같이 유기수은이 가지는 지질용해성 및 생체막투과성[1,2] 때문인 것으로 사료된다.

그러나 수은에 의한 SCE 빈도 증가는 다른 화학물질(cyclophosphamide, adriamycin 등)에 의한 증가보다

비교적 작은 것으로 본 실험의 성적으로부터 수은의 발암성 및 돌연변이유도성을 논하기에는 미흡하며, 생체실험과 본 실험과 유사한 반복적인 결과 등이 뒷바침되어야 할 것이다.

현재까지는 수은중독에 대해 원자흡광법(AAS) 및 gas-chromatography(GS) 등의 분석방법은 수은농도를 보다 정확히 반영함으로써, 진단과 예방에 매우 유용한 정보를 제공해 준다. 그러나 이들 분석결과는 환경 및 생체조직에 축적된 수은농도를 파악할 수 있을뿐, 뚜렷한 중독증상이 나타나지 않는 한, 측정된 농도의 수은이 생체내에서 어느정도의 독작용을 발휘하는 가는 알 수 없다. 따라서 중독증상이 나타나기 전에 수은에 의한 생체의 독작용을 간접적으로 측정할 수 있는 지침이 정립된다면 수은중독에 대한 예방대책 및 진단에 매우 유용할 것이다.

이러한 관점에서 본 실험의 결과는 SCE 빈도가 수은농도에 따라 dose-dependent한 증가를 보이므로, 혈액 및 조직내 축적된 수은농도측정과 아울러 생물학적인 독성검정에 매우 큰 의의가 있다고 사료되며, 향후 보다 많은 자료의 누적과 생체내에서의 SCE의 연구결과는 수은중독의 연구에 보다 깊이 접근할 수 있을 것으로 기대된다.

V. 總 括

정상인의 혈액을 배양하는 조건에 유기수은(CH_3HgCl)과 무기수은($HgCl_2$)을 첨가시켜 임파구의 자매염색분체교환(SCEs) 현상을 관찰한 바, 다음과 같이 요약된다.

1. 염색분체의 대조염색에 필수적인 5-bromo-2′-deoxyuridine 자체에 의해서도 평균 5이상의 SCE가 나타나며, 농도가 증가함에 따라 SCE의 빈도도 현저히 증가된다($p<0.01$).

2. 무기 및 유기수은은 모두 SCE의 빈도를 증가시키며, 같은 농도일지라도 유기수은의 경우 더 큰 영향을 미친다.

3. 세포분열지수는 수은농도가 증가함에 따라 감소되며 이는 2μM 이상의 농도일때 더욱 현저하다($p<0.01$).

REFERENCES

1. Hammond, P.B., and Belies, R.P.: *Metals. In Doull, J., Klaassen, C.D., and Amdur, M.O. (eds.). Casarett and Doull's Toxicology. 2nd Ed., Macmillan Publishing Co. Inc., New York*, pp. 421-435, 1980.
2. Mailman, R.B.: *Heavy metal. In Guthrie, F.E., and Perry, J.J. (eds.). Introduction to Environmental Toxicology. Elsevier, New York*, pp. 34-43, 1980.
3. Clarkson, T.W.: *The pharmacology of mercury compounds. Annu. Rev. Pharmacol.*, 12: 375, 1972.
4. Clarkson, T.W.: *Disease associated with exposure to metal; mercury. In Last, J.M. (ed.). Maxcy-Rosenau Public Health and Preventive Medicine. 11th Ed., Applenton-Century-Crofts, New York*, pp. 655-658, 1980.
5. Peterson, J.E.: *Industrial Health. Prentice-Hall, Inc., New Jersey*, pp. 48-53, 1977.
6. Bakir, F., Damluji, S.F., Amin-Zaki, L., Murtadha, M., Khalidi, A., Al-Rawi, N.Y., Tikriti, S., Dhahir, H.I., Clarkson, T.W., Smith, J.C., and Doherty, R.A.: *Methylmercury poisoning in Iraq. Science*, 181: 230, 1973.
7. Spann, J.W., Heath, R.G., Kreitzer, J.W., Heath, R.G., Kreitzer, J.F., and Locke, L.N.: *Ethylmercury p-toluene sulfonanilide: lethal and reproductive effeccts on pheasants. Science*, 175: 328, 1972.
8. Watanba, T., Shimada, T., and Endo, A.: *Effects of mercury compounds on ovulation and meiotic and mitotic chromosomes in female golden hamster. Teratol.*, 25: 381, 1982.
9. Skerfving, S., Hansson, K., and Lindsten, J.: *Chromosome breakage in humans exposed to methyl mercury through fish consumption. Arch. Environ. Health*, 34: 461, 1979.
10. Popescu, H.I., Negru, L., and Lancranjan, I.: *Chromosome aberrations induced by occupational exposure to mercury. Environ. Health*, 34:461, 1979.
11. Taylor, J.H., Woods, P.S., and Hughes, W.L.: *The organization and duplication of chromosomes as revealed by autoradiolographic studies using tritium-labelled thymidine. Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 43: 122, 1957.
12. Latt, S.A.: *Microfluorometric detection of deoxyribonucleic acid replication in human metaphase*

chromosomes. Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 70: 3395, 1973.

13. Perry, P., and Wolff, S.: *New Giemsa method for the differential staining of sister chromatids. Nature*, 251:159, 1974.
14. Perr, P., and Evans, H.J.: *Cytological detection of mutagen-carcinogen exposure by sister chromatid exchange. Nature*, 258:121, 1975.
15. Carrano, A.V., Thompson, L.H., Lindl, P.A., and Minkler, J.L.: *Sister chromatid exchange as an indicator of mutagenesis. Nature*, 271:551, 1978.
16. Braley, M.O., Hsu I.C., and Harris, C.C.: *Relationships between sister chromatid exchange and mutagenecity, toxicity and DNA damage. Nature*, 282:318, 1979.
17. Morimoto, K. and Wolff, S.: *Cell cycle kinetics in human lymphocyte culture. Nature.* 288:604, 1980.
18. Davids Davidson, R.L., Kaufman, E.R., Dugherty, C.P., Ouellette, A.M., DiFolco, C.M. and Latt, S.A.: *Induction of sister chromatid exchanges by BUdR is largely independent of the BUdR content of DNA. Nature*, 284: 74, 1980.
19. Bannerman, R.M. and Stetka, D.G.: *Sister chromatid exchange frequencies in lymphocytes*, i: 1025, 1984.
20. Kato, H.: *Spontaneous siter chromatid exchanges detected by a BUdR-labelling method. Nature*, 251: 70, 1974.
21. 李金泳, 金聖柱 : *Sister chromatid exchange, polyploidy and endoreduplication in normal human lymphocyte culture.* 과학교육논총(전북대학교 과학교육연구소), 8: 43, 1983.
22. Wolff, S., Rodin, B. and Cleaver, J.E.: *Sister chromatid exchanges induced by mutagenic carcinogens in normal and xeroderma pigmentosum cells. Nature*, 265:347, 1977.
23. Kurvink, K., Bloomfield, C.D. Keenan, K.M., Levitt, S. and Cervenka, J.: *Sister chromatid exchange in lymphocytes from patients with malignant lymphoma. Human Genetics*, 44: 137, 1978.
24. Kurvink, K., Bloomfield, C.D. and Cervenka, J.: *Sister chromatid exchange in patients with viral disease. Exp. Cell Res.*, 133:450, 1978.
25. Tice, R. Windler, G. and Rary, J.M.: *Effects of cocultivation on sister chromatid exchange frequencies in Bloom's syndrome and normal fibroblast cells. Nature*, 273:538, 1978.
26. Musilova, J., Michalova, K. and Urban, J.: *The incidence of sister chromatid exchanges and chromosomal breakage in patients treated with cytostatics. Mutat. Res.*, 67:298, 1978.
27. Wilmer, J.L., Erexson, G.L. and Kligerman, A. D.: *Sister chromatid exchange induction in mouse B-& T-lymphocytes exposed to cyclophosphamide in vitro & in vivo. Cancer Res.*, 44:880, 1984.
28. Husum, B., Niebuhr, E., Wulf, H.G. and Norgaard, L.: *Sister chromatid exchanges and structural chromosome aberrations in lymphocytes in operating room personnel. Acta Anaesthesiol. Scand.*, 27: 262, 1983.
29. Wolff, S. and Rodin, B.: *Saccharin-induced sister chromatid exchanges chinese hamster & human cells. Science*, 200:543, 1978.
30. Morimoto, K and Wolff, S.: *Increase of sister chromatid exchanges and perturbations of cell division kinetics in human lymphocytes by benzene metabolites. Cancer Research*, 40:1189, 1980.
31. Olah, E., Toth, K., Sugar J., Hegedüs, L. and Somfai-Relle, S.: *Effects of some sugar alcohol dervatives on mutation of sister chromatid exchanges. Cancer Research*, 43:4530, 1983.